

Untersuchungen zur Umaromatisierung des Schweinefleisches

ARNDT PALITZSCH

1965



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555205_0003

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

UNTERSUCHUNGEN ZUR UMAROMATISIERUNG
DES SCHWEINEFLEISCHES

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Arndt Palitzsch

aus

Wallroda

München 1965



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. L. Kotter

Referent: Prof. Dr. L. Kotter

Tag der Promotion: 26.2.1965

Meiner lieben Frau
und
meinen lieben Eltern

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
EINLEITUNG	8
SCHRIFTTUM	9
I. Das Aroma des rohen und gekochten Fleisches	9
1. Begriffsbestimmung	9
2. Originäre und beim Kochen entstehende Aromastoffe des Fleisches und Methoden für ihre Bestimmung	11
a) Bestimmung von Carbonylverbindungen, organischen Schwefelverbindungen, Schwefelwasserstoff und Stickstoffbasen	11
b) Trennung von niederen, flüchtigen Fettsäuren und deren Geschmacksschwellen	17
c) Die Aromavorläufer ("precursors") des Fleisches	20
3. Maillard-Reaktion	21
II. Die Aromabildung in gepökelten und gereiften Fleischwaren	27
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	32
I. Zur Aromabildung in umgeröteten Fleischwaren	32
1. Die Fraktionierung der an der Entstehung des Pökelaromas beteiligten Muskelbestandteile	32
2. Die Beeinflussung des Pökelaromas durch Muskelfarbstoffe	36
3. Modellversuche mit Aminosäuren, reduzierenden Zuckern und Nitritpökelsalz	38

	Seite
II. Isolierung und Identifikation einiger flüchtiger Komponenten aus umaromatisiertem Schweinefleisch	39
1. Bestimmung von Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Kohlendioxyd und Stickstoffoxyd	39
2. Analyse der niederen, flüchtigen Fettsäuren in ge- pökeltem Fleischextrakt	41
3. Zur Untersuchung flüchtiger Carbonylverbindungen	43
D. DISKUSSION	56
E. ZUSAMMENFASSUNG	60
F. LITERATURVERZEICHNIS	61
LEBENS LAUF	

A. E I N L E I T U N G

In neuerer Zeit werden manche Fleischwaren, deren konventionelle Herstellung mit größerem Zeitaufwand erfolgt, bevorzugt in Schnellverfahren produziert, wobei es häufig zu einer gewissen Aromaverarmung kommt. Wenn auch für den Verbraucher beim Kauf von Fleischwaren das Aussehen entscheidendes Kriterium ist, so tritt beim Verzehr doch der Geschmack in den Vordergrund. Durch genaue Kenntnis der zur Aromabildung führenden Reaktionen und der dabei entstehenden Verbindungen sind auch technologische Schlußfolgerungen möglich. Daher haben Untersuchungen über den Ablauf der Aromabildung in umgeröteten Fleischwaren besondere Bedeutung.

Bei der Herstellung von umgeröteten Fleischwaren kommt es stets zu Reaktionen des Nitritanions oder seiner Abbauprodukte mit verschiedenen Bestandteilen des Fleisches. Neben den hitzebeständigen und bereits weitgehend erforschten Nitritverbindungen des Muskelfarbstoffs entsteht bei diesem Prozeß ein typisches Aroma.

Dieser Arbeit lag die Absicht zugrunde, einige für die Umaromatisierung wichtige Faktoren zu studieren. Außerdem sollte versucht werden, einige flüchtige Verbindungen des umgeröteten Schweinefleisches zu isolieren und zu identifizieren.

B. S C H R I F T T U M

I. DAS AROMA DES ROHEN UND GEKOCHTEN FLEISCHES

1. Begriffsbestimmung

Mit Hilfe moderner chemischer und physikalischer Untersuchungsmethoden sowie komplizierter organoleptischer Prüfverfahren (Jellinek (53, 54, 55), Kováts (61)) können heute immer mehr Stoffe bestimmt werden, die beim Verzehr von Lebensmitteln sinnesphysiologisch wirksam sind. Diese Stoffe werden allgemein als Aromastoffe bezeichnet; die Sinneswahrnehmung kommt durch das Aroma der Lebensmittel zustande. Das Wort "Aroma" selbst entstammt dem Griechischen, wo es soviel wie Gewürz bedeutet.

In neuerer Zeit hat sich besonders Rothe (89, 90, 91) in seinen Arbeiten über das Brotaroma um eine Klärung der Begriffe "Aroma" und "Aromastoff" bemüht. Nach ihm ist eine Verallgemeinerung der Bezeichnung "Aroma" eingetreten. Man versteht darunter meist einen Wohlgeruch. Das Wort "Aroma" wird heute immer mehr als Überbegriff typischer Sinneswahrnehmungen beim Verzehr von Lebensmitteln verwendet. An der Wahrnehmung des Aromas sind sowohl der Geruchs- als auch der Geschmackssinn beteiligt, wobei dem ersteren jedoch eine größere Bedeutung zukommt. Durch die Geschmacksstoffe wird nur das durch die Geruchsstoffe hervorgerufene Grundaroma variiert oder ergänzt. Die Geruchsstoffe weisen verschiedene charakteristische Eigenschaften auf. Sie besitzen durchweg eine relativ hohe Flüchtigkeit und lösen noch in sehr geringer Konzentration einen Geruchseindruck aus. Dieser ändert sich mit dem Verdünnungsgrad. Rothe definiert schließlich den Begriff "Aroma" als "alle beim Verzehr auslösenden und typischen Geruchs- und Geschmacksempfindungen, unabhängig von der Intensität der erzeugten Geschmackswirkung". Als "Aromastoffe" bezeichnet er solche Stoffe, "die chemisch exakt zu definieren sind und für sich allein oder in Kombination mit anderen Aromastoffen oder Geschmacksstoffen ein bestimmtes angenehmes Aroma hervorzurufen in der Lage sind". Das typische Gesamtaroma ergibt sich dann stets erst aus der Kombination vieler verschiedener Aromastoffe.

Burger (17) unterscheidet sechs verschiedene Geschmacksrichtungen. Neben den vier klassischen Geschmacksrichtungen süß, sauer, bitter und salzig differenziert er noch scharf und kühlend. Die so schmeckenden Stoffe sind mit Wasserdampf nicht flüchtig und wirken nur direkt auf der Zunge auf den Geschmacksnerv ein. Die leicht flüchtigen Geruchsstoffe teilt er ein in die Qualitäten fruchtig, blumig, terpen-aromatisch, würzig, gewürzhaft, grün-krautig, fäkalartig, brenzlich und chemisch, wobei er unter einem "chemischen Aroma" ein disharmonisches, künstliches Aroma versteht.

Im anglo-amerikanischen Sprachraum wird größtenteils das Wort "flavour" oder "flavor" gebraucht, um die **Schmackhaftigkeit** von Nahrungsmitteln zu kennzeichnen. Mohler (71) übersetzt diesen Begriff einfach, wenn auch nicht sehr treffend, wie er selbst meint, durch das Wort "Aroma". Einen direkten deutschen Ausdruck für dieses Wort gibt es nicht, eine Übersetzung ist daher nur durch Umschreibung möglich. Unter "flavor" ist die Gesamtheit aller Empfindungen, die durch Geruch, Geschmack und sonstige Sinne (z.B. Tast- und Temperatursinn) beim Verzeehr von Lebensmitteln in Mund und Nase wahrgenommen werden, zu verstehen. Neben dem "meat flavor" wird teilweise noch das "meat aroma" unterschieden (109), wobei der Begriff "flavor" mehr für den Geschmack, die Bezeichnung "aroma" mehr für den Geruch gebraucht wird. Eine Unterscheidung dieser beiden Begriffe ist jedoch gerade bei Fleisch besonders schwierig.

Durch Hewitt und Mitarbeiter (44) sowie Königsbacher und Mitarbeiter (62) wurden außerdem Begriffe geprägt, welche die Grundbaustoffe für das eigentliche "flavor" charakterisieren. Die von ihnen verwendeten Worte "odor-flavor" und "taste-flavor" übersetzt Mohler (71) mit "Geruchs-Aroma" bzw. "Geschmacks-Aroma". Diese Geruchs- und Geschmacksstoffe in Lebensmitteln entstehen z.T. erst durch enzymatische Reaktionen aus anderen chemischen Verbindungen, die als Aromavorläufer oder "flavor precursors" bezeichnet werden. Viele Aromastoffe benötigen für ihre Entstehung einen besonderen Aromavorläufer und ein besonderes Enzymsystem. Enzyme, die aus den Aromavorläufern die für das Erzeugnis charakteristischen Aromastoffe erzeugen können, werden als "flavorese enzymes" bezeichnet. So gelingt es z.B., durch Zugabe von aus Senfsamen gewonnenen Fermenten die aktivierbaren Aromabestandteile der getrockneten Brunnenkresse aus ihrem latenten Zustand zu lösen und die charakteristischen Geruchs- und Geschmacksstoffe der frischen Kresse wiederzuerhalten.

Wird mit Nitritpökelsalz versetztes Fleisch erhitzt, so entsteht neben dem hitzebeständigen roten Pökelfarbstoff ein typisches Aroma, das im Englischen durch

die Bezeichnung "cured flavor" charakterisiert wird. Die deutsche Sprache kennt für dieses spezielle Aroma keinen besonderen Ausdruck. In dieser Arbeit wird das bei der Umaromatisierung entstehende Aroma als Pökelaroma bezeichnet, obwohl diese Bezeichnung auch bei nicht erhitzten, gereiften, umgerösten Fleischwaren gebraucht wird. Dieses Aroma entsteht aber auch in bestimmten Fleischwaren, wie Brüh- und Kochwürsten, die nicht im eigentlichen Sinne des Wortes gepökelt sind.

2. Originäre und beim Kochen entstehende Aromastoffe des Fleisches und Methoden für ihre Bestimmung

- a) Bestimmung von Carbonylverbindungen, organischen Schwefelverbindungen, Schwefelwasserstoff und Stickstoffbasen

Im vergangenen Jahrzehnt wurde besonders in den USA und in England mit der Erforschung des komplexen Problems des Fleischaromas begonnen. Es lassen sich dabei zwei Arbeitsrichtungen unterscheiden: Einmal wurde versucht, die besonders geruchswirksamen, meist leicht flüchtigen Verbindungen zu erfassen und zu identifizieren, zum anderen wurden neue Arbeitstechniken entwickelt, um die Aromavorstufen zu isolieren. Die Arbeiten wurden zwar zumeist im Rahmen der Grundlagenforschung betrieben, sie haben schließlich jedoch das Fernziel, aufgrund der zu erwartenden qualitativen und quantitativen Aussagen die Aromaentstehung steuern zu können. Neben diesen grundlegenden Untersuchungen finden sich im Schrifttum auch Studien, die sich mit den bei der Bestrahlung von Fleisch entstehenden Aromastoffen befassen.

Nach Kaufmann und Mitarbeitern (57), die sich mit der gaschromatographischen Bestimmung des Fleischaromas befaßten, sind zur Aromaanalyse folgende drei Schritte nötig:

1. Ein Konzentrationsschritt, bei dem aus einer großen Menge des Nahrungsmittels die Aromastoffe angereichert werden;
2. ein Fraktionierungsschritt, bei dem das heterogene Aromakonzentrat in einzelne chemische Gruppen zerlegt wird;
3. ein Identifizierungsschritt, mit Hilfe dessen die Einzelverbindung aufgrund ihrer chemischen und/oder physikalischen Eigenschaften bestimmt wird.

Die meisten Untersucher bedienten sich dieses Schemas.

Crocker (21) war einer der ersten Forscher, die sich intensiv mit dem Aroma des Fleisches befaßten. Er untersuchte es noch ausschließlich mit organoleptischen Methoden. Dabei fand er, daß das Fleischaroma mehr aus Geruchs- als aus Geschmacksstoffen besteht, die sich in der Fleischfaser und nicht im Saft des gekochten Fleisches entwickeln. Crocker weist bereits daraufhin, daß am Fleischaroma Schwefelwasserstoff, verschiedene Amine und Indol beteiligt sein können.

Olson und Mitarbeiter (78) kamen später zu ähnlichen Ergebnissen. Sie stellten jedoch fest, daß die Fleischfaser geruch- und geschmacklos ist. Durch Extraktion und Destillation versuchten sie, die Geruchsstoffe zu isolieren und fanden H_2S und NH_3 , die nach ihrer Meinung in geringen Mengen für das Fleischaroma charakteristisch sind.

In seinen Arbeiten über das Hühnerfleischaroma kommt Bouthilet (12, 13, 14) zu dem Ergebnis, daß das Aroma durch Auspressen der Fleischfasern nicht entfernt werden kann, sondern an die Fasern gebunden ist. Es wird erst durch Hitze freigesetzt, wobei man eine dem Glutathion ähnliche Verbindung als Aromavorläufer vermutet. Glutathion selbst riecht fleischähnlich, wenn es in wäßriger Lösung auf ca. 60°C erhitzt wird. Bouthilet stellt weiterhin fest, daß das Aroma des Hühnerfleisches zumindest aus zwei Bestandteilen zusammengesetzt ist, einer schwefelhaltigen und einer Fettsäure-Komponente. Die schwefelhaltigen Verbindungen sind labil und spalten beim Kochen H_2S ab.

Auch Pippen und Mitarbeiter (81, 82, 83) bearbeiteten bevorzugt die Aromastoffe des Hühnerfleisches. Zur Trennung und Isolierung der flüchtigen Carbonylverbindungen fällten sie diese als Hydrazonderivate, die säulen- und papierchromatographisch getrennt wurden. Als Hauptcarbonylverbindungen konnten sie aus der flüchtigen Fraktion von Hühnerfleisch sicher Diacetyl und/oder Acetoin, Acetaldehyd, n-Hexanal und n-Deca-2,4-dienal isolieren und identifizieren. Daneben wurden noch 16 weitere Carbonylverbindungen erhalten, die jedoch in viel geringerer Menge vorlagen und nicht sicher bestimmt werden konnten. Die Autoren sind der Meinung, daß die Konzentration aller Carbonyle ausreicht, um einen Bestandteil des Hühnerfleischaromas darzustellen. Neben den Carbonylverbindungen konnten sie noch Schwefelwasserstoff und Ammoniak feststellen.

Die Zusammensetzung handelsüblicher Fleischextrakte wurde von Wood und Bender (112) untersucht. Folgende im Fleischextrakt enthaltene Verbindungen wurden mit Hilfe von Papierchromatographie und Elektrodialyse isoliert: 2 % Aminosäuren (Methylhistidin, α -Alanin, Serin, Methionin, Leucin und Iso-leucin, Histidin, Citrullin und Taurin), 6 % Peptide (Anserin, Carnosin und ein nicht identifiziertes Peptid), 10 % Guanidine (Kreatinin und Kreatin), 6 % Purine, Pyrimidine und andere organische Verbindungen wie Cholin, Harnstoff und Ammoniak, 16 % organische Säuren (Milch-, Glykol- und Bernsteinsäure), 11 % proteinhaltiges Material und 29-30 % anorganische Salze. Die restlichen 19 % bestehen überwiegend aus farbigen Substanzen, bei denen es sich um verschiedene Phenolderivate und Amine handelt. Zusammen mit den anorganischen Salzen sollen diese "Fleischpigmente" wesentlich zum Geruch und Geschmack beitragen.

Pearson und Mitarbeiter (80) untersuchten den Einfluß von Bestrahlung, Temperatur und Lagerungsdauer auf den Gehalt von Rind-, Schweine- und Kalbfleisch an Säure-Salz-löslichen Carbonylen, Methylmerkaptan, Schwefelwasserstoff, Gesamt-Glutathion und reduziertem Glutathion. Carbonyl-, Schwefelwasserstoff- und Methylmerkaptangehalt waren bei gekochtem Fleisch stets höher als bei gefrorenem. Der Glutathiongehalt nahm dagegen durch das Kochen ab.

Die Intensität und Lokalisation des Aromas von rohem und gekochtem Fleisch untersuchten Kramlich und Pearson (63), indem sie einen konzentrierten Fleisch-Wasser-Extrakt mit Hilfe von Verdünnungsreihen organoleptisch testeten. Sie beobachteten, daß die Aromastoffe des rohen und gekochten Fleisches gut wasserlöslich sind und durch einfache Extraktion dem Fleisch leicht entzogen werden können. Das Aroma des gekochten Fleisches ist intensiver als das des Ausgangsproduktes, kann sich jedoch nur dann voll entwickeln, wenn Faser und Saft des Fleisches zusammen erhitzt werden. Durch eine Veränderung des p_H -Wertes während des Kochens kann das Aroma nicht geändert werden. In einer späteren Arbeit (64) versuchten die Autoren, die Aromakomponenten des gekochten Rindfleisches zu trennen und zu identifizieren. Als Ausgangsmaterial wurde eine Fleisch-Wasser-Suspension verwendet, durch die während des Kochens ständig ein Stickstoffstrom eingeblasen wurde. Die flüchtigen Schwefelverbindungen und Carbonyle wurden in Fallen mit Bleiacetat und 2,4-Dinitrophenylhydrazin (DNP)-Reagenz abgeschieden. Die gefällten Schwefelverbindungen, die einen schwarzen Niederschlag bildeten, wurden nicht weiter untersucht, während die 2,4-Dinitrophenylhydrazone (DNPH) papierchromatographisch getrennt und einer der drei Flecken als Acetaldehyd identifiziert wurden. Um die gesamten flüch-

tigen Stoffe zu erfassen, wurden stufenweise gekühlte Fallen vorgelegt und die Kondensate nach dem Auftauen an drei verschiedenen stationären Phasen gaschromatographisch getrennt. Die einzelnen Peaks wurden durch Vergleich mit den Retentionsvolumina bekannter Substanzen, spezifischer qualitativer Tests am Trägergasausgang sowie durch Infrarot-Spektroskopie identifiziert. Dabei konnte neben Acetaldehyd auch Aceton festgestellt werden. Außerdem wurden Kohlendioxyd, Schwefelwasserstoff, Methylmerkaptan und Methylsulfid (?) gefunden. Wurde das Gemisch der flüchtigen Stoffe durch destilliertes Wasser geleitet, so ließ sich später darin ein fleischähnliches Aroma feststellen.

Merritt und Mitarbeiter (70) geben ein Verfahren an, durch das mit Hilfe von Niedertemperatur-Hochvakuumdestillation, Gaschromatographie und Massenspektroskopie flüchtige Stoffe in Lebensmitteln isoliert, getrennt und identifiziert werden können. Es gelang ihnen, in bestrahltem und unbestrahltem Fleisch neben Acetaldehyd und Aceton auch Äthylmethylketon nachzuweisen. Daneben fanden sie in Spuren Methyl- und Äthylmerkaptan, Dimethylsulfid sowie Methanol und Äthanol. Aus bestrahltem Fleisch konnten sie außerdem noch Dimethyldisulfid und Isobutymerkaptan isolieren.

Gaschromatographie und Massenspektroskopie wurden auch von Stahl (101) zur Untersuchung der flüchtigen Verbindungen von rohem Fleisch angewendet. Er fand folgende drei Substanzen: Schwefelwasserstoff, Methyl- und Äthylmerkaptan.

Die flüchtige Fraktion von getrocknetem, vakuumverpacktem Fleisch untersuchten Burnett und Mitarbeiter (18). Dabei konnten sie aus Schweinefleisch, das bei Temperaturen von -29 und $+34^{\circ}\text{C}$ gelagert worden war, als einzige Carbonylverbindung Acetaldehyd isolieren.

Hornstein und Mitarbeiter (47, 48, 49) berichteten in mehreren Veröffentlichungen über die Untersuchung des Aromas von Rind-, Schweine- und Walfleisch. Auch sie stellten fest, daß die aromaerzeugenden Bestandteile von erhitztem Fleisch wasserlöslich sind. Nach Lyophilisation der wäßrigen Fleischextrakte fraktionierten sie diese im Vakuum und erhielten zwei Fraktionen. In der leicht flüchtigen Fraktion konnten sie folgende Verbindungen nachweisen: Acetaldehyd, Aceton, Formaldehyd, H_2S , CO_2 , NH_3 , Methylmerkaptan und Methylamin. Aus Walfleisch wurde zusätzlich zu diesen Verbindungen noch Trimethylamin isoliert. Die schwerer flüchtige Fraktion enthielt zu 90 % optisch aktive Milchsäure und zu 5 % Ammoniak. Bei den im Rest der Fraktion verblie-

benen Substanzen konnte nur eine starke Lichtabsorption im Bereich von 240-250 $m\mu$ nachgewiesen werden, eine Identifikation gelang nicht. Diese Verbindungen sollen jedoch möglicherweise für ein fleischartiges Aroma verantwortlich sein.

Mit ihren Versuchen konnten Hornstein und Mitarbeiter zeigen, daß das typische Grundaroma von Fleisch verschiedener Tierarten an den Magerfleischanteil gebunden ist, während die tierartlich spezifischen Komponenten des Fleischaromas im Fettgewebe verankert sind. Eine gaschromatographische Untersuchung der freien Fettsäuren der drei Tierarten ergab erhebliche Verschiedenheiten. Dabei waren die Unterschiede zwischen Rind- und Schweinefleisch einerseits und Walfleisch andererseits besonders deutlich.

Das Team Yueh und Strong (115) untersuchte sehr eingehend die flüchtigen Verbindungen von gekochtem Rindfleisch. Eine experimentell hergestellte Fleischbrühe trennten sie durch Destillation in mehrere Fraktionen. Sie beobachteten, daß der größte Teil des charakteristischen Geruchs von Fleischbrühe im Destillat vorhanden war. Aus einer basischen Fraktion des Destillats wurde Ammoniak identifiziert. Die Carbonylverbindungen wurden nach Fällung als Hydratzonderivate durch Extraktion in Mono- und Polycarbonylderivate getrennt. Durch papierchromatographische Analyse erhielten die Autoren die Monocarbonyle Acetaldehyd und Aceton. Die Identifikation wurde durch Schmelzpunktbestimmung, Infrarot- und Röntgenspektroskopie untermauert. Als Polycarbonylverbindung wurde das Diacetyl durch Schmelzpunktbestimmung und IR-Spektrum erkannt.

Bender und Ballance (7) gelang es, zwölf verschiedene Verbindungen aus der flüchtigen Fraktion eines Fleischextraktes zu isolieren. Die leicht flüchtigen Substanzen wurden nach Verdampfen im Stickstoffstrom in Kühlfallen kondensiert. Die Trennung der Kondensate erfolgte gaschromatographisch mit zwei Säulen verschiedener stationärer Phasen. Die einzelnen Peaks wurden mit Hilfe ihrer relativen Retentionsvolumina, die mit denen bekannter Substanzen verglichen wurden, identifiziert. Als Bezugssubstanz diente Isobutanal. Die Carbonylverbindungen wurden noch gesondert bestimmt, wobei sie nach einem von Pippin und Mitarbeitern (82) beschriebenen Verfahren gefällt und nach der Methode von Keeney (58) mit Lävulinsäure wieder freigesetzt und gaschromatographisch analysiert wurden. Mit Hilfe dieser Methoden konnten Acetaldehyd, Aceton, Propanal, Isobutanal und Isopentanal, Äthylmethylketon, Schwefelwasserstoff, Methyl- und Äthylmerkaptan, Dimethylsulfid, Methanol und Äthanol sicher identifiziert werden.

Abschließend sollen in diesem Kapitel einige Arbeiten besprochen werden, die sich mit der Anreicherung, Isolierung, Trennung und Identifikation von Aromastoffen in verschiedenen Lebensmitteln beschäftigen und für die Erforschung des Fleischaromas methodisch richtungsweisend sein können.

Die Bedeutung der Gaschromatographie für die Aromaforschung wurde schon sehr bald erkannt. Dimick und Corse (23) berichteten bereits 1956 über eine Methode zur gaschromatographischen Trennung und Identifikation von flüchtigen Substanzen in Lebensmitteln. Auch Howkanen und Karvonen (50) wiesen auf die Bedeutung der Gaschromatographie für die qualitative und quantitative Bestimmung von Aromastoffen hin. Sie reicherten die flüchtigen Verbindungen zur gaschromatographischen Trennung durch Vakuumdestillation und Kondensation in Kühlfallen an.

Nawar und Fagerson (75) beschrieben ein spezielles Anreicherungsverfahren für Aromastoffe. Dabei wurden diese nach Einfrieren des Untersuchungsmaterials, Evakuierung und Wiederauftauen in konzentrierter Form als "Kopfraumgas" gewonnen. Dieses wurde dann direkt in den Gaschromatographen eingespritzt.

Schormüller und Grosch (98) arbeiteten einen Analysengang zur Trennung der neutralen Carbonylverbindungen in Tomaten aus. Dabei trennten sie die Monocarbonyle von den Polycarbonylen nach der Fällung als Hydrazonderivate durch Extraktion mit n-Hexan. Die Bestimmung der einzelnen Verbindungen erfolgte durch Papier-, Säulen-, Dünnschicht- und Gaschromatographie. Zur gaschromatographischen Analyse wurden die Carbonylverbindungen aus ihren 2,4-DNPH nach der Methode von Keeney (58) durch Erhitzen mit der 100- bis 200-fachen Menge Lävulinsäure in Freiheit gesetzt.

Von Ralls (85) wurde die sogenannte "Flash Exchange Gas Chromatography" für die Untersuchung flüchtiger Verbindungen in Gemüse entwickelt. Die flüchtigen Verbindungen wurden dabei in feste Derivate übergeführt und aus diesen später mit speziellen Reagenzien durch Erhitzen in Glaskapillaren wieder zurückgewonnen und direkt in den Gaschromatographen eingeleitet. Die Carbonyle wurde als 2,4-DNPH gefällt, mit der dreifachen Menge α -Ketoglutar säure vermischt und später zur gaschromatographischen Untersuchung in einem einseitig zugeschmolzenen Kapillarröhrchen 10-15 sec. auf ca. 245°C erhitzt. Mit dieser Methode konnte eine Ausbeute von 50-60 % erzielt werden. Ralls (86) untersuchte mit Hilfe dieser Methode die flüchtigen Carbonyle in Erbsen.

Durch eine Modifikation der Methode von Ralls konnte ten Hoopen (105) die Ausbeute an regenerierten Carbonylen auf 90-100 % erhöhen. Bei seinen Untersuchungen der flüchtigen Carbonyle des Honigs verbrachte er hinter das Reaktionsgemisch (2,4-DNPH und α -Ketoglutar säure) in das Kapillarröhrchen ein wenig NaHCO_3 . Aus diesem wird bei der Reaktionstemperatur Kohlendioxyd freigesetzt, das die Carbonyle direkt in die Trennsäule des Gaschromatographen treibt.

b) Trennung von niederen, flüchtigen Fettsäuren und deren Geschmacksschwellen

Einige niedere, flüchtige Fettsäuren, wie die Buttersäure, stellen sehr aromaaktive Verbindungen dar. Eine Reihe von Forschern befaßte sich mit ihrer Bestimmung in Lebensmitteln. Vor Bekanntwerden der Gaschromatographie bereitete die Feststellung und quantitative Bestimmung der einzelnen freien, niederen Fettsäuren beträchtliche Schwierigkeiten. Durch die von James und Martin (51) entwickelte Technik zur Bestimmung der freien Fettsäuren mit Hilfe der gaschromatographischen Analyse wurde dieses Problem gut gelöst; aber auch die anderen chromatographischen Verfahren erleichtern die Analyse dieser Verbindungsklasse erheblich.

Im folgenden sollen einige Arbeiten der letzten Jahre, die sich mit der Analyse der freien Fettsäuren in Lebensmitteln befassen, referiert werden. Ritter (87) gab 1955 einen Überblick über die bis dahin bekannten chemisch-analytischen Methoden zur Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren. Im Jahre 1957 referierten Naguib und Beerbom (74) ein umfangreiches Schrifttum über die Papier- und Säulen chromatographie von organischen Säuren. Sie beschrieben außerdem eine Methode, durch die mit einer angesäuerten Silica-Gel-Säule Butter-, Propion-, Essig-, Fumar-, Ameisen-, Brenztrauben-, Bernstein-, trans-Aconit-, Milch-, α -Ketoglutar-, Äpfel- und Zitronensäure einwandfrei getrennt werden. Als mobile Phase verwenden sie Benzol/Äther mit 0,05 n H_2SO_4 . Die gewonnenen Säuren werden papierchromatographisch identifiziert.

Ritter und Hänni (88) bestimmten 1960 die flüchtigen Fettsäuren in Milch mit Hilfe der Gaschromatographie. Sie unterzogen die Proben einer Wasserdampfdestillation, titrierten die niederen Säuren mit n/10 Natronlauge, dampften die Lösung ein und setzten die Säuren danach durch Verreiben mit trockenem Kaliumbisulfat aus ihren Natriumsalzen wieder frei. Die Fettsäuren wurden mit frisch ab-

destilliertem Äther aufgenommen und direkt in den Gaschromatographen eingeführt.

Schormüller und Langer (96) berichteten im gleichen Jahr eingehend über die Trennung der flüchtigen aliphatischen Monocarbonsäuren von C_1 bis C_9 , die der nichtflüchtigen aliphatischen Di- und Tricarbonsäuren sowie über eine Bestimmungsmethode der α -Ketocarbonsäuren. Mit Hilfe der Rundfilterchromatographie werden die Säuren identifiziert. Die quantitative Bestimmung der flüchtigen Säuren erfolgt gaschromatographisch mit angeschlossener Titrationszelle. Die nichtflüchtigen Säuren bestimmten sie mit Hilfe der Ionenaustauschchromatographie und die α -Ketocarbonsäuren verteilungschromatographisch als 2,4-DNPH.

Diemair und Schams (22) gaben ebenfalls 1960 eine Methode zur Bestimmung der niederen, flüchtigen Fettsäuren in Lebensmitteln an. Zur Anreicherung der flüchtigen Säuren bedienten sie sich einmal ebenfalls der Wasserdampfdestillation, außerdem benutzten sie ein Extraktionsverfahren. Als Extraktionsmittel wurden Äther und Alkohol verwendet. Danach überführten sie die Säuren durch Kalkwasser in ihre Salze, und reinigten sie später noch über ihre Natriumsalze. Die Säuren setzten sie aus ihren Salzen nach Übersichten mit wenig Äther durch einige Tropfen Salz- oder Schwefelsäure frei. Die Ätherlösung wurde dann direkt in den Trägergasstrom des Gaschromatographen verbracht. Auf diese Weise konnten von Diemair und Schams die niederen, flüchtigen Säuren in Milch, Butter und Käse sowie Wein und Brot bestimmt werden.

Gehrke und Lankin (30) arbeiteten 1961 eine Methode zur quantitativen Bestimmung wasserdampf-flüchtiger Fettsäuren mittels Gaschromatographie aus, die eine Modifikation der Originalmethode von James und Martin (51) darstellt. Churáček (19) bewertete 1962 die papierchromatographischen Bestimmungsmethoden der niederen Fettsäuren und gab zahlreiche Literaturhinweise.

Über die Analyse der flüchtigen, freien Fettsäuren von Fleisch gibt es in der Literatur nur wenige Angaben. Yueh und Strong (115) untersuchten die flüchtigen Säuren zusammen mit anderen flüchtigen Verbindungen in gekochtem Rindfleisch. Sie destillierten frische, mit H_2SO_4 stark angesäuerte Fleischbrühe und titrierten danach das Destillat mit NaOH und Phenolphthalein. Das Destillat wurde eingedampft, die flüchtigen Säuren mit 6 n H_2SO_4 freigesetzt und in Äther aufgenommen. Danach wurden die Säuren mit Diazomethan verestert und

die Methylester gaschromatographisch bestimmt. Es konnten dabei Ameisen-, Essig-, Propion-, Isobutter- und Buttersäure festgestellt werden.

Ockerman und Mitarbeiter (77) bestimmten die flüchtigen Fettsäuren von trockengepökeltem Schinken. Sie verwendeten dazu die von Ralls (85) entwickelte "Flash Exchange Gas Chromatography". Die flüchtigen Säuren wurden mit KOH gefällt und durch Verdampfen der Flüssigkeit die Kaliumsalze gewonnen. Aus diesen entstehen durch eine Reaktion mit Kaliumäthylsulfat bei 300°C die Äthylester der Säuren. Die Umsetzung erfolgt in einem Kapillarröhrchen, und die Äthylester werden anschließend gaschromatographisch bestimmt. Durch Vergleich mit den Retentionszeiten bekannter Äthylester und durch Infrarotspektroskopie konnten Ameisen-, Essig-, Propion-, Butter- und Isocaprinsäure identifiziert werden.

Die Bedeutung der flüchtigen, freien Fettsäuren für das Aroma von Lebensmitteln wird nicht einheitlich beurteilt. Große Bedeutung haben die flüchtigen Säuren wahrscheinlich für das Aroma von Käse und Wein. Trotz ihres penetranten, ranzigen Geruchs hat die Buttersäure eine höhere Geschmacksschwelle als allgemein angenommen wird. Nach Grossfeld und Battay (40) lassen sich 10 mg Buttersäure in 100 ml Flüssigkeit wahrnehmen, wenn keine anderen, stärker riechenden Stoffe vorhanden sind. Patton und Josephson (79) stellten für die Buttersäure die Geschmacksschwelle in homogenisierter Milch bei 25 p.p.m. fest. Von Skramlik (100) konnte $5 \cdot 10^{-5}$ g Buttersäure in 50 ml Wasser noch gut wahrnehmen. Rothe (91) fand, daß man die Buttersäure bei einer Konzentration von $3 \cdot 10^{-5}$ gerade noch sinnesphysiologisch erfassen kann. Bei einer Konzentration von $1 \cdot 10^{-5}$ war Buttersäure organoleptisch nicht mehr nachweisbar. Er zieht einen Trennstrich zwischen den eigentlichen Aromastoffen und anderen geruchswirksamen Verbindungen bei einer Schwellenkonzentration von 10^{-6} und rechnet Stoffe mit einer höherliegenden Geschmacksschwelle nicht mehr zu den Aromastoffen. Die Buttersäure würde demnach nicht, wie man eigentlich vermuten könnte, zu den Aromastoffen zählen, obwohl der Reinsubstanz ein außerordentlich penetrant-ranziger Geruch anhaftet. In einer neueren Arbeit von Rothe und Thomas (92) wurde besonders auf die Problematik des Geschmacksschwellenwertes eingegangen.

Nach Hahn und Ulbrich (42) sowie Ehrenberg und Güttes (26) gilt die Geschmacksschwelle der eigentlichen Geschmacksstoffe nur für Reinsubstanzen, während bei Vorliegen verschiedener Geschmacksstoffe häufig Verschiebungen der Schwellenkonzentration auftreten. Ehrenberg und Güttes stell-

ten fest, daß durch Zusatz von Salzen zu ihren Säuren die Geschmacksintensität stark gesteigert wird. Rhodanide sollen die Aromaintensität vermindern, Sulfate heben. Hahn und Ulbrich beobachteten stets eine Addition der Schwellenwerte, wenn Geschmacksstoffe gleicher Reizqualität (salzig, sauer, bitter oder süß) gemischt wurden. Bei der Entstehung eines Mischgeschmacks wurde der Schwellenwert des Grundgeschmacks gesenkt. Es dürfte sehr schwierig sein, die gegenseitige Beeinflussung der Schwellenwerte von Aromastoffen zu bestimmen, die in wechselnder Konzentration vorliegen.

Rothe und Thomas (92) bedienen sich dennoch, mit allen Vorbehalten, des Schwellenwertes als einer konstanten Maßzahl für die Geruchswirksamkeit eines Aromastoffes. Sie errechneten mit Hilfe der Geschmacksschwelle und der gefundenen Konzentration einer geruchswirksamen Substanz in Lebensmitteln den "Aromawert" (Aromawert = $\frac{\text{gefundene Konzentration}}{\text{Geschmacksschwelle}}$).

c) Die Aromavorläufer ("precursors") des Fleisches

Die Aromavorläufer wurden besonders von Batzer und Mitarbeitern (4) untersucht. Nach Extraktion des Fleisches mit kaltem Wasser wurde der Extrakt durch Dialyse fraktioniert. Die gesuchten Aromavorläufer erwiesen sich als wasserlösliche Verbindungen. Die niedermolekulare Fraktion, die vor allem Kohlehydrate und ninhydrin-positive Substanzen enthielt, ergab beim Vermischen mit zwei Fraktionen der durch Cohn'sche Fällung aufgetrennten wasserlöslichen Eiweißkörper typisches Fleischaroma. In einer späteren Arbeit (5) versuchten die genannten Autoren, die Aromavorläufer zu isolieren. Sie erhielten dabei eine relativ einfache Mischung von Glukose, Inosinsäure und einem Glykoprotein. Als Bausteine des Glykoproteins konnten neben Glukose folgende Aminosäuren festgestellt werden: α - und β -Alanin, Serin, Glutaminsäure, Glykokoll, Leucin und Isoleucin sowie Prolin. β -Alanin bildete den Hauptanteil. Wurde eine Mischung dieser Aminosäuren mit Glukose, Inosin und anorganischem Phosphat zusammengebracht und anschließend mit Fett oder Wasser erhitzt, so erhielt man ein fleischähnliches Aroma. Die Autoren nehmen deshalb an, daß nur gewisse Aminosäuren notwendige Aromavorläufer darstellen.

Macy und Mitarbeiter (66, 67) analysierten die Bestandteile von lyophilisierten Diffusaten aus Kaltwasserextrakten von Rind-, Schweine- und Hammelfleisch.

Die Zusammensetzung dieser niedermolekularen Fraktion ist bei allen drei Tierarten qualitativ und quantitativ ähnlich. Durch quantitative Bestimmung der Aminostickstoffverbindungen und Kohlehydrate vor und nach dem Erhitzen stellten die Autoren fest, daß diese Stoffgruppen Aromavorläufer für das gekochte Fleisch darstellen. Auch sie fanden, daß Inosin ein Aromavorläufer des Fleisches ist.

Zu völlig anderen Ergebnissen kamen Hornstein und Crowe (48). Sie bemühten sich, durch Modellversuche die Vorstufen der beim Erhitzen von Magerfleisch entstehenden Geruchsstoffe zu finden. Dabei erhitzen sie Eialbumin oder Gelatine mit Glukose. Ein Auftreten von Geruchsstoffen konnte nur beobachtet werden, wenn zusätzlich Milchsäure an der Reaktion beteiligt wurde. Die entstehenden Geruchsstoffe unterschieden sich jedoch erheblich von denen des gekochten Fleisches. Sie zogen daraus den Schluß, daß als Aromavorstufen sowohl Proteine als auch Reaktionsprodukte von Zuckern mit Proteinen nicht in Frage kommen. Dagegen soll der Milchsäure eine gewisse Bedeutung zukommen.

Yueh und Strong (115) glauben, daß die von ihnen isolierten flüchtigen Verbindungen des Fleisches beim Kochen aus geruchlosen Substanzen entstehen. Ob die festgestellten Gase Ammoniak und Schwefelwasserstoff aus Amino- und Sulfhydrylgruppen des Fleisches entstehen, konnte nicht geklärt werden. Durch Verlängerung der Kochzeit entstand mehr Schwefelwasserstoff.

3. Maillard-Reaktion

Über den Ablauf der Maillard-Reaktion, die auch als nichtenzymatische Bräunung bezeichnet wird, liegt ein umfangreiches Schrifttum vor. Dennoch konnte die Reaktion, bei der aus Zuckern und Aminosäuren letztlich als Melanoidine bezeichnete Polymerisationsprodukte entstehen, noch nicht völlig geklärt werden. Als eine Ursache dafür nehmen Rothe und Voigt (93) die Überlagerung und das Ineinandergreifen der einzelnen Reaktionsmechanismen an. Außerdem sind die Zwischenprodukte der Reaktion aufgrund ihrer großen Reaktionsfähigkeit sehr schwer erfassbar, und die entstehenden braunen Endprodukte stellen sehr komplexe und uneinheitlich aufgebaute Substanzen dar.

Die Reaktion wurde von Maillard (69) im Jahre 1912 entdeckt, der fand, daß bei erhöhten Temperaturen zwischen Glykokoll und Glukose in neutraler Lösung eine Reaktion stattfindet, die über nicht erfaßbare Zwischenstufen und CO_2 -Abspaltung zur Bildung brauner Farbstoffe führt. Als rasch reagierende Aminosäuren erwiesen sich Glykokoll und Alanin, als reaktionsfähigste Zucker Xylose und Arabinose. Außer der Braunfärbung tritt stets auch eine charakteristische Veränderung des Aromas ein, die teils erwünscht, wie bei der Bratenkruste des Fleisches, teils unerwünscht, wie bei der Lagerung von Trockenmilchpulver, ist.

Hodge (45), der auch ein umfangreiches Schrifttum referierte, stellte fest, daß bei der Reaktion zwischen Aminosäuren und reduzierenden Zuckern primär vor allem N-Glykosid-Verbindungen entstehen, die nach Umlagerung einer Aldehydgruppe in eine Ketogruppe (Amadori-Umgruppierung) in Desoxyaminoketosenen übergehen. Diese Verbindungen werden sehr leicht hydratisiert, und nach Verlust von drei Molekülen Wasser liefern sie die Schiff'schen Basen des Furfurols bzw. Oxymethylfurfurols. Diese Schiff'schen Basen können hydrolytisch zum freien Aldehyd gespalten werden, oder es entstehen durch Polymerisations- und Kondensationsreaktionen ungesättigte Polymere, die als Melanoidine bezeichnet werden. Hodge nimmt an, daß die Melanoidinbildung auf verschiedenen Wegen erfolgen kann. Sehr umfangreiche Literaturzusammenfassungen über die nichtenzymatische Bräunung wurden auch von Cremer und Mendel (20) sowie von Görnhardt (32) gegeben.

Täufel und Mitarbeiter (103) studierten die Reaktion eingehend mit Hilfe von Modellversuchen, indem sie die Umsetzungsprodukte von reduzierenden Zuckern mit Ammoniak, primären Aminen und Aminosäuren papierchromatographisch untersuchten. Sie kamen dabei zu dem Ergebnis, daß man in allen natürlichen Systemen, in denen neben reduzierenden Zuckern auch Ammoniak, Aminosäuren oder Proteine zugegen sind, mit dem Ablauf der Maillard-Reaktion rechnen muß. Die Reaktionsgeschwindigkeit der Zucker nimmt in der Reihenfolge Pentosen, Ketohehexosen, Aldohehexosen und Disaccharide ab. Der Reaktionsverlauf selbst ist stark milieuabhängig (p_H , Temperatur, Einwirkungszeit, Wassergehalt). Die bei der Maillard-Reaktion primär entstehenden Reaktionsprodukte können in einer Vielzahl von Sekundärumssetzungen weiterreagieren. Aufgrund dessen läßt sich für den Ablauf der nichtenzymatischen Bräunungsreaktion kein allgemeingültiges Schema aufstellen. Den ersten Schritt der Maillard-Reaktion sehen Täufel und Mitarbeiter jedoch stets in einer Anlagerung der

Aminogruppe an die Carbonylgruppe des Saccharides. Erst die weiteren Umsetzungen sind stark milieuabhängig, wobei die Amadori-Umlagerung mit der Entstehung von Furanderivaten eine Schlüsselstellung einnehmen soll.

Die Reaktionsbedingungen, unter denen die Maillard-Reaktion ablaufen kann, wurden ausführlich von G ö r n h a r d t (32) beschrieben. Demnach ist die Reaktion stark abhängig vom Wassergehalt. Das Optimum des Wassergehalts soll zwischen 5 und 10 % liegen. Ein bestimmter p_H -Wert ist nicht erforderlich, in eiweißreichen Systemen liegt das Optimum jedoch im neutralen Bereich. Besonders charakteristisch ist für die Reaktion ihr hoher Temperaturfaktor. Bei einer Temperatursteigerung um 10°C kann sich die Reaktionsgeschwindigkeit vervierfachen. S c h o r m ü l l e r (97) kommt zu gleichen Ergebnissen.

K o v á t s und R a j k y (60) stellten fest, daß die Maillard-Reaktion bereits bei Zimmertemperatur ablaufen kann, wenn eine genügend lange Einwirkungszeit zur Verfügung steht. Von allen geprüften Zuckern zeigte die Fruktose die stärkste Bräunung mit denselben Aminosäuren oder Eiweißstoffen.

In ihren Arbeiten über das Brotaroma untersuchten R o t h e und Mitarbeiter (89, 90, 107) auch die Maillard-Reaktion. Sie führten die Bildung der am Brotaroma beteiligten Aldehyde auf eine oxydative Desaminierung und Decarboxylierung der Aminosäuren bei der Reaktion mit Zuckern zurück. Es entsteht dabei ein Aldehyd mit einer um 1 verminderten C-Atom-Anzahl. Diese Reaktion kann einmal als Transaminierungsreaktion mit Reduktionen gedeutet werden, zum anderen unterliegt das Furfurol, das stets als Zwischenprodukt auftritt, sehr leicht der Autoxydation zu Furfurpersäure. Diese kann als Wasserstoffacceptor dienen und die Aminosäuren zu Iminosäuren dehydrieren. Iminosäuren spalten in der Hitze leicht Kohlendioxyd ab, und nach Hydrolyse entsteht dann aus ihnen neben Ammoniak der ein C-Atom weniger enthaltende Aminosäurealdehyd. Sie deuteten damit die Entstehung der in der flüchtigen Fraktion von Brot gefundenen Aldehyde. Zwischen organoleptisch feststellbarem Geschmack verschiedener Brote und deren Aldehydgehalt konnten eindeutige Beziehungen festgestellt werden. Als Hauptbestandteil der Aldehydfraktion wurde Furfurol gefunden.

Die Entstehung der einzelnen Aminosäurealdehyde bei der Maillard-Reaktion studierte R o t h e (90) an Hand von Modellversuchen mit Xylose. Die entstandenen Aldehyde wurden papierchromatographisch bestimmt. Dabei zeigten folgende 6 Aminosäuren eine besonders starke Aldehydbildung: Alanin (Acetaldehyd),

Valin (Isobutanal), Leucin (β -Methylbutanal), Isoleucin (α -Methylbutanal), Methionin (Methional) und Phenylalanin (Phenylacetaldehyd). Durch Zusatz dieser Aminosäuren zu Versuchsbroten konnte die Entstehung der entsprechenden Aminosäurealdehyde forciert werden. Xylosezusatz bewirkte eine verstärkte Furfuralbildung.

Rothe und Voigt (93) stellten fest, daß die bei der Maillard-Reaktion gebildeten Aminosäurealdehyde sehr leicht Sekundärreaktionen unterliegen, die das Auftreten braungefärbter, hochmolekularer Verbindungen fördern. Diese Reaktionen sollen Aldolkondensationen und Aldehyd-Amin-Reaktionen darstellen. Sie fanden, daß die einzelnen Aminosäuren bei der Hitzebräunung eine unterschiedliche Neigung sowohl zur Bildung von Melanoidinen als auch zur Aldehydbildung zeigen; Einfach gebaute Aminosäuren bilden im Strecker'schen Abbau besonders für die nachfolgenden Bräunungsreaktionen prädestinierte einfache Aldehyde. Die aus den höheren Monoamino-monocarbonsäuren gebildeten Aldehyde sind dagegen stabiler gegen die Sekundärreaktionen der Bräunung und können geschmackswirksam werden.

Die Bedeutung der Maillard-Reaktion für die Entstehung des Aromas von gekochtem und umaromatisiertem Fleisch ist noch wenig erforscht. Auf diese Tatsache wurde von Grau (33) sowie von Görnhardt (32) hingewiesen. Unbestritten ist die Bedeutung der Maillard-Reaktion jedoch für das Zustandekommen der braunen Kruste, des Geruchs und des Geschmacks beim Braten, Schmoren und Grillen des Fleisches.

Von Pearson und Mitarbeitern (80) wurde beobachtet, daß die Carbonylverbindungen beim Kochen des Fleisches zunehmen. Wood (114) studierte die nichtenzymatische Bräunung an dialysierten Ochsenmuskelextrakten. Die dabei gewonnene weiße und geruchlose Substanz zeigte bereits nach wenigen Tagen Lagerung bei Zimmertemperatur eine bräunliche Verfärbung und das Auftreten eines typischen, fleischähnlichen Aromas. Ähnliches stellten Batzer und Mitarbeiter (4) beim Studium der Aromavorläufer des Fleisches fest; sie fanden, daß die durch Dialyse gewonnene niedermolekulare Fraktion vom Ochsenmuskel sehr instabil war. Das zuerst weiße und granuliert Material wurde nach 3-7 Tagen braun und teerig. Dabei wurden Ammoniak und/oder Amine abgegeben. Nach 7 Tagen roch das Material nach altem Fleisch.

Wood (114) machte für die oben beschriebene Bräunung Umsetzungen vom Typ der Maillard-Reaktion verantwortlich. Er stellte fest, daß mit der Entste-

hung farbiger Produkte auch die Aminosäuren und reduzierenden Zucker bedeutend verringert werden, und zwar sei schon eine kleine Menge reduzierender Zucker für das Verschwinden eines großen Anteils von freien Aminosäuren verantwortlich. Bei schlachtfischem Fleisch stellte er gleichzeitig mit der Abnahme der Aminosäuren und Zucker eine Zunahme an freiem Orthophosphat fest. Neben Diphosphorpyridinnukleotid sowie Glukose- und Fruktose-6-phosphat fand er im frischen Muskelfleisch gelegentlich Glukose, im gereiften Fleisch stets nur Glukose, Fruktose und Ribose. In Modellversuchen bei Zimmertemperatur konnte Bräunung nur beim Zusammenbringen von Aminosäuren mit Ribose-5-phosphat oder Ribose festgestellt werden. Glukose reagierte dagegen mit Aminosäuren erst beim Erhitzen. Wood nimmt deshalb an, daß in Extrakten von Frischfleisch die Bräunung und Aromabildung durch Ribose-5-phosphat, bei Extrakten aus gereiftem Fleisch durch Ribose hervorgerufen wird.

Tarr (102) zeigte, daß die enzymatisch aus Ribonucleinsäure freigesetzte Ribose an der Bräunung von Fischfleisch beteiligt ist. Er stellte fest, daß im Rinder- und Kälbermuskel freie Ribose aus Ribosiden und Ribose-5-phosphat entsteht. Dagegen bildet der Schweinemuskel freie Ribose nur aus Ribose-5-phosphat. Außerdem konnte er zeigen, daß der Rindfleischmuskel aus Inosin Ribose freisetzen kann.

Bender, Wood und Palgrave (8) stellten beim Vergleich der Analysen von frischem und handelsüblichem Fleischextrakt als Hauptunterschied eine Abnahme von Zuckern und freien Aminosäuren im Handelsfabrikat fest. Statt dieser konnten sie braune Pigmente beobachten, die wahrscheinlich durch Umsetzungen vom Typ der Maillard-Reaktion entstehen.

Morton und Mitarbeiter (72) ließen sich ein Verfahren patentieren, mit Hilfe dessen durch Umsetzung von Aminosäuren mit Aldopentosen Aromastoffe für Lebensmittel gewonnen werden können, die sehr ähnlich dem Geruch und Geschmack des gekochten Fleisches sein sollen. Die besten Ergebnisse erhielten sie mit Ribose allein oder in Kombination mit anderen Pentose- oder Hexose-Monosacchariden. Als Aminosäure muß mindestens Cystein zugegen sein, voller schmeckende Würzstoffe entstehen, wenn noch mindestens drei andere Aminosäuren verwendet werden. Phenylalanin und Methionin dürfen nicht zugegen sein, weil sie blumen- bzw. kartoffelartiges Aroma ergeben. Pro ein Mol Aminokomponente werden 0,1 bis 0,5 Mol Monosaccharid gebraucht. Im allgemeinen wird die Reaktion bei über 70°C unter Verwendung der 15- bis 25-fachen Gewichtsmenge Wasser, bezogen auf das Gewicht der Monosaccharide, durchgeführt. Die Reaktionsprodukte ließen sie ungefähr eine Woche lang lagern.

Lobanow und Wolfson (65) untersuchten die Melanoidinbildung bei der Fleischzubereitung. Sie stellten aus Fleisch ein farbloses, eiweißfreies Ultrafiltrat her, das einen eigenartigen Geschmack und Geruch aufwies. Bei der Analyse des Ultrafiltrates fanden sie neben 16 Aminosäuren und den beiden Dipeptiden Anserin und Carnosin auch Glukose und Glukose-6-phosphat. Bei der Erwärmung des Ultrafiltrates im kochenden Wasserbad und am Rückflußkühler entwickelten sich Farbe, Geruch und Geschmack der Fleischbrühe. Durch Modellversuche konnte nachgewiesen werden, daß diese organoleptischen Veränderungen bei der Erhitzung des Ultrafiltrates auf durch Ablauf der Maillard-Reaktion entstandene Verbindungen zurückzuführen sind. Weiterhin versuchten die Autoren, durch Eindampfen von Fleischbrühe Vorgänge nachzuahmen, wie sie bei der Krustenbildung von geschmortem Fleisch vor sich gehen. Geruch und Geschmack änderten sich dabei stark. Zuerst trat ein Aroma auf, das dem der Roggenbrotkruste ähnelte, bei stärkerer Erhitzung bitterer Beigeschmack und Karamelgeruch. Sie stellten fest, daß sich folgende Aminosäuren durch Melanoidinbildung verringern: Lysin, Arginin, Serin, Glykokoll, Glutaminsäure, Threonin, Alanin, Valin, Phenylalanin und Leucin. Glukose und Glukose-6-phosphat verschwanden völlig.

Macy und Mitarbeiter (66, 67) untersuchten bei ihren Arbeiten über die Aromavorläufer des Fleisches die Bestandteile der niedermolekularen Fraktion qualitativ und quantitativ vor und nach dem Erhitzen. Als Hauptbestandteile fanden sie Taurin, Anserin-Carnosin und Alanin, die mengenmäßig bei der Erhitzung am stärksten abnahmen. Außerdem wurden durch die Erhitzung Glutaminsäure, Glykokoll, Lysin, Serin, Cystin, Methionin, Leucin, Isoleucin und Methylhistidin abgebaut. Von den gefundenen Kohlehydraten Glukose, Fruktose, Ribose und einem nicht identifizierten Kohlehydrat verschwand die Ribose und das nicht identifizierte Kohlehydrat bei der Erhitzung völlig, die Fruktose war am stabilsten. Der Abbau der Aminosäuren und reduzierenden Zucker wird auf Umsetzungen vom Typ der Maillard-Reaktion zurückgeführt.

Herz und Shallenberger (43) fanden, daß bei der Reaktion von Aminosäuren mit reduzierenden Zuckern neben braunen Farbstoffen auch Geruchs- und Geschmacksstoffe gebildet werden. Sie versetzten 50 mg Glukose mit der äquimolaren Menge 15 verschiedener Aminosäuren. Die Mischungen wurden mit 0,5 ml Wasser auf 100 bzw. 180°C am Rückflußkühler erhitzt. Bei 100°C konnten sie folgende Geruchsrichtungen feststellen: Brot (Valin), Schokolade (Leucin, Glutaminsäure, Threonin), Veilchen (Phenylalanin), Karamel (Arginin, Asparaginsäure). Kartoffel (Methionin). Histidin und Lysin bildeten erst bei 180°C

nach Brot riechende Verbindungen. Als Aromaquelle wurden die beim Abbau von Aminosäuren und Glukose (Strecker-Abbau) entstehenden Aldehyde angesehen.

Den Strecker-Abbau des d,1-Methionin untersuchte Ballance (3), indem er die flüchtige Fraktion in Kühlfallen kondensierte und anschließend gaschromatographisch analysierte. Als Hauptbestandteil fand er Methylmerkaptan, das wahrscheinlich erst sekundär durch Zerfall des Primärprodukts Methional entsteht. Außerdem konnten Spuren von Acrolein und Dimethylsulfid identifiziert werden.

II. DIE AROMABILDUNG IN GEPÖKELTEN UND GEREIFTEN FLEISCHWAREN

In diesem Abschnitt sollen nur Faktoren besprochen werden, die für die Aromabildung in schnellgepökelten, erhitzten Fleischwaren Bedeutung haben. Dabei kommen neben den originären Fleischaromastoffen Verbindungen des Nitritanions bzw. seiner Abbauprodukte mit den verschiedensten Bestandteilen des Fleisches in Frage. Bei der Aromabildung in gereiften, umgeröteten Fleischwaren spielen außerdem noch von muskeleigenen und mikrobiellen Fermenten gebildete Abbauprodukte eine Rolle. Terplan (106) hat das Schrifttum in dieser Hinsicht umfassend referiert.

Früher nahm man an (59), daß weder Nitrate noch Nitrite an der Entstehung des typischen Pökelfleischgeschmacks beteiligt sind. Dagegen gilt heute als feststehend, daß Nitrit bereits nach kurzer Einwirkung auf Fleisch, insbesondere bei gleichzeitiger Erhitzung, das typische Pökelaroma entwickelt. So stellte bereits Moulton (73) 1936 fest, daß der Geschmack des Pökelfleisches bei einer Kochsalz-Nitrit-(Nitrat-) Pökellung völlig verschieden ist von dem einer reinen Kochsalzpökellung. Koller (59) bestätigte diese Feststellung. Er glaubt, daß die aus den "Nitraten und Nitriten freiwerdenden Säuren" Verbindungen mit den Eiweißkörpern des Fleisches eingehen. Über die Zusammensetzung des eigentlichen "Pökelwohlgeschmacks" kann er keine Angaben machen. Außerdem ist er der Meinung, daß es einen "echten Pökelduft" gibt. Brooks und Mitarbeiter (15) nehmen sogar an, daß Nitrit und Kochsalz allein den Pökelgeschmack bedingen. Verwendeten sie anstelle von Nitrit Salpeter, so trat der charakteristische Geschmack erst auf, wenn das Nitrat zu Nitrit reduziert worden war.

Bechthold (6) vermutet eine enge Beziehung zwischen dem "Umfärben" und der Aromabildung in Pökelfleisch. Jensen (52) meint, daß es bei der Pökung zu einer Veränderung der organoleptischen Eigenschaften der Proteine, Fette und Kohlehydrate kommt und daß dadurch das charakteristische Pökelaroma bedingt wird. Dasselbe stellt Eddy (25) fest, der die Entstehung des Pökelaromas auf die Reaktion des Nitrits mit einem noch unbekannten Muskelbestandteil zurückführt.

Brooks und Pace (16) beobachteten bei ihren Untersuchungen, daß bei Vermischen von Nitrit und Muskelbrei zuerst ein schneller Nitritabbau in einer Menge von 10^{-5} g/g Fleisch erfolgt. Später kommt es dann zu einer weiteren langsamen Abnahme. Der rasche Abbau des Nitritansions soll durch seine Reduktion und die daran anschließende Reaktion der Reduktionsprodukte mit den "Häpigmenten" (Nitrosoverbindungen) erfolgen. Die daran anschließende langsame Abnahme des Nitritgehalts wird dagegen auf die Reaktion mit den freien Aminogruppen zurückgeführt.

Diese Reaktion wurde von van Slyke (108) als eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Aminostickstoffs in Proteinen, Peptiden und Aminosäuren ausgearbeitet und wird deshalb teilweise auch nach ihm benannt. Ten Cate (104) bezeichnet sie als "Reaktion nach Piria". Bei der Reaktion der Aminogruppen mit Nitriten entsteht neben Hydroxysäuren und Wasser auch Stickstoff, der volumetrisch gemessen werden kann ($R-NH_2 + HONO \longrightarrow R-OH + N_2 + H_2O$). Van Slyke konnte feststellen, daß durch Nitrit aus den meisten Aminosäuren ein Molekül Stickstoff freigesetzt wird, aus Lysin sogar zwei, während bei der Reaktion mit Prolin und Oxyprolin kein Stickstoff entsteht. Bei allen Aminosäuren, mit Ausnahme von Tryptophan, Histidin und Arginin, wird der gesamte Stickstoff umgesetzt. Aminosäuren mit Aminogruppen in α -Stellung zur Carboxylgruppe reagieren am schnellsten (5 min. bei $20^\circ C$). Dagegen werden für Acetylamin, Ammoniak, Harnstoff und die Aminogruppen in Purinen und Pyrimidinen viel längere Reaktionszeiten benötigt (1,5 - 8 std.).

Nach Ten Cate (104) sollen die sekundären Aminosäuren (Tryptophan, Prolin und Oxyprolin) mit Nitrit unter Bildung von Nitrosaminen reagieren ($R_2-NH + HONO \longrightarrow R_2N(NO) + H_2O$). Von Plimmer (84) wurde diese Reaktion speziell zwischen den Hexonbasen und salpetriger Säure untersucht. Er stellte fest, daß Arginin und Histidin bei $14 - 17^\circ C$ in 15-20 Minuten, Lysin in einer Stunde reagieren. Durch Verlängerung der Einwirkungszeit wurde nur bei Arginin die Stickstoffausbeute in geringem Maße gesteigert.

Schmidt (95) beobachtete, daß aus einigen Aminosäuren bei 45°C mehr Stickstoff freigesetzt wird, als man aufgrund der freien Aminogruppen erwarten kann. Dabei greift die salpetrige Säure im Arginin wahrscheinlich langsam die Guanidingruppe an; in Cystein und Cystin wird der Schwefel oxydiert.

Verschiedene Untersucher vermuteten, daß bei dieser Reaktion auch Intermediärprodukte entstehen, die später wieder abgebaut werden. Es gelang Abdel-Akher und Sandstrom (1) nachzuweisen, daß beim Glykokoll zuerst die Methylengruppe in ein Oxim übergeführt wird, welches seinerseits mit der salpetrigen Säure reagiert. Die Desaminierung der Aminogruppe erfolgt erst später. Austin (2) stellte fest, daß bei der Reaktion von Glykolsäure (desaminiertem Glykokoll) mit Nitrit Nitromethan und Methylnitrolsäure entstehen. Er vermutet, daß dabei noch Zwischenprodukte gebildet werden.

Obwohl der Ablauf der Van-Slyke-Reaktion bei der Pökellung selbst noch nicht direkt nachgewiesen werden konnte, nehmen Terplan (106) und ten Cate (104) an, daß sie bei der Entstehung des typischen Pökelgeschmacks durch die gebildeten Hydroxysäuren eine Rolle spielt. Auch Greenwood (39) glaubt, daß der große Nitritverlust beim Erhitzen von Pökellaken auf diese Reaktion zurückzuführen ist. Ebenso wird von Niven (76) angenommen, daß die Gasbildung in Pökellaken durch eine Reaktion zwischen den freien Aminogruppen der Proteine und der salpetrigen Säure zustandekommt. Dagegen meinen Wilder und Kraybill (110), daß die pH -Werte des Fleisches bei normalen Temperaturen für den Ablauf dieser Reaktion nicht optimal sind. Erst bei höheren Temperaturen könne sie dennoch vonstattengehen. Bei ihren Untersuchungen stellten sie fest, daß der Lysingehalt in nitrithaltigem Luncheon meat um 12 % abnahm. Im Gegensatz dazu wies gleich stark erhitztes Fleisch ohne Nitrit keinen Lysinverlust auf.

Nach Wilson (111) sollen zwischen den Fleischeiweißstoffen und dem Nitrit mehrere nitritverbrauchende Reaktionen stattfinden, die sehr wahrscheinlich eine Ursache des Pökelgeschmacks darstellen, jedoch nichts mit der Bildung des Nitrosomyochromogens zu tun haben. Für letztere Reaktion werde nur ein Teil des Nitrits verbraucht.

Nach ten Cate (104) kommen für das Verschwinden des Nitrits neben der "Reaktion nach Piria" und der Nitrosomyochromogenbildung noch folgende Reaktionen in Frage:

1. Bei aromatischen Aminosäuren (Tyrosin, Phenylalanin) können durch Nitriteinwirkung neben Phenolen auch Diazoniumverbindungen entstehen.
2. Im p_H -Bereich des Fleisches kann aus Nitrit nach der Gleichung

$$3\text{HNO}_2 \rightleftharpoons \text{HNO}_3 + 2\text{NO} + \text{H}_2\text{O}$$
Stickstoffoxyd entstehen. Bei einem p_H -Wert des Fleisches von 5,5 sind 1 %, bei p_H 6,0 ungefähr 0,25 % des Nitrits zu freier salpetriger Säure dissoziiert. Das Gleichgewicht kann durch Senkung des Redoxpotentials (z.B. durch Ascorbinsäurezusatz) nach rechts verschoben werden.
3. Bei Luftzutritt entsteht aus Stickstoffoxyd sehr schnell Stickstoffdioxid, das einen typischen stechenden Geruch aufweist. Durch diese Oxidation, die nur an der Fleischoberfläche stattfinden soll, wird das Gleichgewicht ebenfalls nach rechts verschoben und Nitrit verbraucht. Ten Cate sieht das Stickstoffdioxid als Ursache für den typischen Geruch der Pökellräume an.

Auch Koller (59) beobachtete, daß auf der Oberfläche von Pökellaken immer NO_2 nachzuweisen ist.

Grau und Böhm (34, 35, 36, 37) untersuchten den Einfluß einiger wasserlöslicher Extraktivstoffe (Aminosäuren, Mineralstoffe) in Wechselwirkung mit dem Pökelsalz auf die Entstehung des Pökelaromas. In Dosenschinken stellten sie die geringste Konzentration an freien Aminosäuren nach dem Spritzen und vor dem "Durchbrennen" fest. Beim "Durchbrennen" und Räuchern nimmt der Aminosäuregehalt zu, fällt jedoch während des Kochens wieder ab. In Fleischstückchen, die in Lake gepökelt waren, fanden sie die gleiche Menge an freien Aminosäuren wie in rohem Fleisch. Böhm (10) untersuchte das Vorkommen freier Purinbasen und beobachtete eine gewisse Zunahme des Hypoxanthins bei der Pökellung.

Grau und Böhm (33, 35, 36) vermuten, daß es durch die Gegenwart freier Aminosäuren im Fleisch mit Nitrit zu einer Van-Slyke-Reaktion kommen kann. Sie beobachteten bereits bei geringen Nitritkonzentrationen eine deutliche "Um-aromatisierung" des Fleisches. Durch Zusatz verschiedener wasserlöslicher Stoffe zu extrahiertem Fleisch zeigten sie, daß an der Entstehung des Pökelaromas folgende Faktoren beteiligt sind: ein gewisser Anstieg bestimmter freier Amino-

säuren bei der Pökellung sowie Reaktionen der freien Aminosäuren der Fleischbasen und der Mineralsalze des Fleisches mit den Ionen des Pökelsalzes. Die Autoren meinen außerdem, daß das aus Myoglobin und Stickstoffoxyd entstehende Nitrosomyoglobin an der Entstehung des Pökelfleischgeschmacks wesentlich beteiligt ist.

McLean und Mitarbeiter (68) beobachteten, daß die Geschmacksstoffe des Pökelfleisches im wesentlichen wasserlöslich sind. Zur Beurteilung des Pökelaromas entwickelten sie ein Verfahren, bei dem wäßrige Extrakte für organoleptische Untersuchungen weiter aufgearbeitet werden.

Abschließend sollen noch einige Arbeiten aus allerneuester Zeit besprochen werden, die sich mit der flüchtigen Fraktion von gereiften, gepökelten Fleischwaren befassen. Die in der flüchtigen Fraktion von Rohwurst enthaltenen Carbonylverbindungen untersuchten Eser und Niinivaara (27, 28). Sie destillierten ein Wurst-Wasser-Gemisch im Vakuum und Stickstoffstrom und fingen das Destillat in einer gekühlten Vorlage mit 2,4-DNP-Reagenz auf. Dadurch wurden die Carbonyle als deren Hydrazonderivate erhalten. Aus diesen wurden durch Erhitzung in einem U-Rohr die Carbonyle mit α -Ketoglutaräure freigesetzt und mit dem Trägergasstrom in die Säule des Gaschromatographen getrieben. Der Totalcarbonylgehalt wurde als Carbonylindex bestimmt, indem ein aliquoter Teil der das Reagenz enthaltenden Vorlage mit methanol-wäßriger KOH-Lösung versetzt und die braunrote Farbe des entstehenden Komplexes colorimetrisch gemessen wurde. Es konnte festgestellt werden, daß der Gesamcarbonylgehalt der Rohwurst am Anfang der Reifung zunimmt und zwischen dem 9. und 11. Tag ein Maximum erreicht; danach fällt er wieder bis auf einen Mindestwert ab. Die bei der gaschromatographischen Analyse erhaltenen Peaks - bis zu 48 - wurden nicht identifiziert. Die Autoren zogen den Schluß, daß die Carbonyle für das Rohwurstaroma einen Teil eines komplexen Ganzen bilden.

Ockerman und Mitarbeiter (77) bestimmten mit der von Ralls (85) erarbeiteten Technik die Carbonylverbindungen in trockengepökeltem Schinken. Die einzelnen Carbonylverbindungen identifizierten sie durch Vergleich mit den Retentionszeiten bekannter Substanzen und durch infrarot-spektrophotometrische Messung der einzelnen am Trägergasausgang wieder ausgefallten Hydrazonderivate. Dabei fanden sie Formaldehyd, Acetaldehyd, Propanal, Isobutanal, Pentanal, Isopentanal, Aceton, Diacetyl und Äthylmethylketon. Während der Reifung des Schinkens nahm die Gewichtsmenge der Carbonylderivate zu; dagegen blieb das Mengenverhältnis der Carbonylverbindungen zueinander, mit Ausnahme vom Äthylmethylketongehalt, der auch relativ anstieg, gleich.

C. E I G E N E U N T E R S U C H U N G E N

I. ZUR AROMABILDUNG IN UMGERÖTETEN FLEISCHWAREN

Wie aus dem Literaturteil zu ersehen ist, wurde das Aroma des ungepökelten Fleisches bereits eingehend untersucht. Dagegen befaßten sich sehr wenige Autoren mit der Aufklärung des Aromas von gepökelten und gereiften Fleischwaren. In den meisten Arbeiten wurde nur festgestellt, daß ein Aromaunterschied zwischen gesalzenen und gepökelten Fleischwaren besteht. Neuerdings studiert man zwar die Aromabildung in gereiften, gepökelten Fleischwaren (z.B. Rohwurst), jedoch liegen hier andere Problemstellungen vor als bei schnellgepökelten Produkten (z.B. Kochschinken). Bei letzteren geht die Bildung des typischen Grundpökelaromas parallel zur Umrötung vor sich und wird deshalb nach Grau und Böhm (36) sowie Terplan (106) als "Umaromatisierung" bezeichnet.

In gereiften und gepökelten Fleischwaren entstehen neben dem Grundpökelaroma zusätzliche Aromastoffe durch Einwirkung originärer Muskelfermente und mikrobieller Enzyme auf Fett und Muskelbestandteile. Diese Vorgänge bezeichnet Terplan (106) als "fermentative Aromabildung".

Die Untersuchungen dieser Arbeit befassen sich bevorzugt mit der Aromabildung in umgeröteten Fleischwaren.

1. Die Fraktionierung der an der Entstehung des Pökelaromas beteiligten Muskelbestandteile

Die hier beschriebenen Versuche wurden gemeinsam mit Terplan vorgenommen.

a) Material und Methodik

Alle Versuche wurden mit einem wäßrigen Fleischextrakt durchgeführt, der aus gewolfem Schweinefleisch hergestellt wurde, das vorher grob von Fettgewebe befreit worden war. Die Extraktion (2 Teile H_2O und 1 Teil Fleisch) erfolgte im Kühlschrank. Das Fleisch-Wasser-Gemisch wurde des öfteren umgerührt und

der Extrakt nach 3 Stunden durch Filtration gewonnen. Den Extrakten wurden im allgemeinen 2 % Nitritpökelsalz zugesetzt, das 0,6 % NaNO_2 enthielt. Als Vergleich dienten Extrakte mit Zusatz von 2 % NaCl . Beide wurden im Thermostat auf 80°C erhitzt. Auch der Fleischrückstand, der zwölfmal mit destilliertem Wasser ausgewaschen wurde, bis Proben auf Chlorid- und Sulfationen negativ ausfielen, wurde, z. T. erst nach tryptischer Verdauung, verwendet.

Die weitere Auftrennung der wäßrigen Extrakte erfolgte durch Dialyse. Das Diffusat wurde gewonnen, indem Dialysierschläuche der Kalle AG 20 Stunden lang bei ca. 5°C mit Hilfe eines Magnetrührers in Standzylindern mit Aqua dest. gedreht wurden. Die Herstellung des Dialysats erfolgte zuerst durch Dialyse gegen fließendes Wasser, dann gegen Aqua dest., bis der Nachweis auf Chloridionen negativ ausfiel.

Nach der Dialyse wurden die aromabildenden Eigenschaften von Diffusat und Dialysat geprüft. Ein Teil des Diffusats wurde unter einer Infrarotlampe bei 70°C eingedampft.

In Anlehnung an Batzer und Mitarbeiter (4) wurde das Diffusat mit dem Austauscher Dowex 50 (H^+) weiter aufgetrennt und das Dialysat mittels Cohn'scher Fällung fraktioniert.

Das Aroma der einzelnen Fraktionen wurde organoleptisch untersucht, was nur als subjektive Methode gewertet werden kann. Alle Proben wurden stets durch fünf gleiche, geschulte Personen beurteilt. Als Standard diente ein mit 2 % Nitritpökelsalz versetzter und auf 80°C erhitzter Fleischextrakt.

b) Ergebnisse und deren Besprechung

aa) Die vor dem Erhitzen mit 2 % Nitritpökelsalz versetzten wäßrigen Fleischextrakte zeigten ein typisches "nitroses" Aroma (an Stickstoffdioxid erinnernd). Dagegen trat bei den Proben, die 2 % NaCl enthielten, ein bouillon-ähnlicher Geruch und Geschmack auf (an gekochtes Schweinefleisch erinnernd). Stets wurde festgestellt, daß sich durch Zugabe von Spuren NaNO_2 zu den mit 2 % NaCl versetztem Fleischextrakt innerhalb sehr kurzer Zeit aus dem bouillon-ähnlichen Geruch das typische Grundpökelaroma entwickelte.

bb) Nach zweitägiger Pökellung des ausgewaschenen Fleischrückstandes mit 5 % Nitritpökelsalz wurde dieser erhitzt. Dabei war ein etwas widerlicher Geruch (an gekochte Eier erinnernd), jedoch kein Pökelaroma festzustellen.

cc) Nach Auftrennung der wäßrigen Extrakte durch Dialyse und Behandlung der einzelnen und kombinierten Fraktionen mit Nitritpökelsalz oder NaCl konnten nach dem Erhitzen auf 80°C folgende Wahrnehmungen gemacht werden:

Fraktion	mit 2 % Nitritpökelsalz	mit 2 % Kochsalz
Diffusat	Geruch aromatisch, süßlich, an gedämpfte, ungeschälte Kartoffeln erinnernd; fleischiger Geschmack; Pökelaroma angedeutet.	Bouillongeruch; Fleischgeschmack
Dialysat	Geruch wenig aromatisch, an gekochte Eier erinnernd; pökelliger Geschmack; Pökelaroma stärker angedeutet als im Diffusat	Geruch an gekochte Eier erinnernd, unangenehm; Geschmack salzig, fade
Dialysat + Diffusat	wie Extrakt unter aa)	wie Extrakt unter aa)
Diffusat eingedampft	Geruch erinnert an warmes Brot und Schweinebraten; mit zunehmender Erhitzung stechender Geruch, Bräunungsreaktion und Aromaverminderung	Geruch nicht so aromatisch wie mit Nitrit, bei Erhitzung keine stechende Komponente
Diffusat eingedampft + Dialysat	Pökelaroma; bei stärkerer Erhitzung des Diffusats stechender Geruch	--
Dialysat gepökelt + Diffusat ungepökelt	relativ aromatisch, aber nicht so wie Extrakt unter aa)	

Fortsetzung von Seite 34

Fraktion	mit 2 % Nitritpökelsalz	mit 2 % Kochsalz
Diffusat gepökelt + Dialysat ungepökelt	nicht so aromatisch wie vorausgehende Kombination	--

dd) Bei der Auftrennung des Diffusats mit dem Ionenaustauscher Dowex 50 wurde eine Ninhydrin-positive und eine Ninhydrin-negative Fraktion erhalten. Die organoleptischen Eigenschaften der zwei Fraktionen wurden einzeln und kombiniert mit dem Dialysat geprüft.

Nach Erhitzung auf 80°C wurden folgende Befunde erhoben:

Kombination mit	Ninhydrin-positive Fraktion mit 2 % Nitritpökelsalz	Ninhydrin-negative Fraktion mit 2 % Nitritpökelsalz
--	Geruch nach gedämpften, ungeschälten Kartoffeln, bouillonartig; säuerlicher Geschmack (bedingt durch Austauscher?)	fast geruchlos; leicht säuerlicher bis leimartiger Geschmack
gepökeltem Dialysat	kein vollständiger Pökeleruch und -geschmack	kein vollständiger Pökeleruch und -geschmack

ee) Nach Versetzen 15 verschiedener, gelöster Aminosäuren mit Nitritpökelsalz und anschließendem Erhitzen konnten ähnliche Geruchskomponenten wie bei der Pökellung der Ninhydrin-positiven Fraktion des Diffusats festgestellt werden.

Die Versuchsergebnisse von aa) - ee) kann man wie folgt zusammenfassen: Das Pökelaroma wird aus wasserlöslichen Fleischbestandteilen gebildet. Diese können durch Dialyse in eine niedermolekulare und eine höhermolekulare Fraktion getrennt werden. Die Fraktionen ergeben für sich mit Nitritpökelsalz kein Pökeleruch.

aroma, jedoch enthält jede Fraktion aromatische Komponenten: beide Fraktionen integriert ergeben, mit Nitritpökelsalz versetzt, Pökelaroma. Wurde nur eine der beiden Fraktionen "gepökelt", so wurde bei der Kombination gepökelttes Dialysat und ungepökelttes Diffusat ein abgerundeteres Aroma erhalten als bei reziproker Kombination.

Durch Auftrennung des Diffusats mit dem Ionenaustauscher Dowex 50 wurde eine Ninhydrin-positive und eine Ninhydrin-negative Fraktion erhalten. Keine dieser beiden Fraktionen ergab mit dem Dialysat zusammen Pökelaroma. Beim Eindampfen des Diffusats kommt es bald zu einer Bräunung des zuerst weißen, kristallinen Rückstandes und zum Verlust von Aromastoffen. Wird das auf über 80°C erhitzte Material wieder gelöst und mit gepökelttem Dialysat kombiniert, so entsteht Pökelaroma, jedoch mit stechender Komponente.

2. Die Beeinflussung des Pökelaromas durch Muskelfarbstoffe

a) Material und Methodik

Um die Bedeutung von Häm- und Hämatinverbindungen und Myoglobin für die Entstehung des Pökelaromas zu studieren, wurden diese Stoffe rein hergestellt.

Die Darstellung des Myoglobins erfolgte nach einer von Ginger und Mitarbeitern (31) beschriebenen Methode. Dabei wurden aus 2 kg Rindfleisch 65 ml einer tiefdunkelroten Lösung gewonnen. Zur Identifikation wurde 1 ml der Lösung mit 42 ml Aceton-Salzsäure versetzt und das Gesamthämatin nach genau einer Stunde im Zeiss-Spektralphotometer auf Lichtabsorption im Wellenbereich von 450-650 m μ untersucht, nachdem die Lösung nochmals im Verhältnis 1:40 verdünnt worden war. Es ergaben sich Absorptionsmaxima bei 500, 550 und 580 m μ , Absorptionsminima bei 480, 525, und 570 m μ . Nach Ginger und Mitarbeitern entspricht diese Kurve einem Metmyoglobin, das mit geringen Mengen von Oxy-myoglobin vermischt ist. 5 ml der Lösung entsprachen etwa dem Myoglobingehalt von 90 g Fleisch. Für die anschließenden Aromaversuche wurde das Myoglobin auf die ursprüngliche Konzentration von ca. 2 g/kg Rindfleisch verdünnt und danach auf seine aromabildenden Eigenschaften in Verbindung mit 2 % Nitritpökelsalz und einer reduzierenden Substanz (Ascorbat) geprüft. Als Blindwerte dienten

Lösungen von Myoglobin, Nitrit und Ascorbat in Wasser, als Standard ein mit 2 % Nitritpökelsalz versetzter Fleischextrakt. Alle Lösungen wurden im Thermostat auf 80°C erhitzt.

Hämin wurde mit einer von Siedel (99) angegebenen Methode nach Schälfejew gewonnen und in 0,1 n KOH gelöst. Diese Lösung wurde mit 2 % Nitritpökelsalz und reduzierenden Substanzen (Ascorbat, Dextrose) behandelt und nach Erhitzung auf 80°C auf Aromabildung geprüft.

b) Ergebnisse

Die wäßrige, "ungepökelte" Myoglobinlösung war fast geruchlos und hatte einen faden, eiweißartigen Geschmack. Beim Versetzen der wäßrigen Myoglobinlösung mit Nitritpökelsalz und Ascorbat und anschließendem Erhitzen wurden folgende Beobachtungen gemacht:

wäßrige Myoglobinlösung

mit Nitritpökelsalz

fast geruchlos, untypisch;
salziger Geschmack; Um-
rötung von grau auf blutrot

mit Nitritpökelsalz und Ascorbat

leichter Ascorbatgeruch wie bei
der Blindprobe; salziger Geschmack

Da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden konnte, daß umgerötetes Myoglobin erst zusammen mit der niedermolekularen Fraktion des Fleisches Aromastoffe bildet, wurde eine gepökelte Myoglobinlösung mit einem ungepökelten Diffusat aus Rindfleisch im Verhältnis 1:1 gemischt, erhitzt und auf seine Aromaeigenschaften geprüft. Die Mischung hatte einen angenehm aromatischen Geruch und wies einen ausgeprägten Bouillongeschmack auf, eine Pökelpkomponente ließ sich nicht feststellen.

Wurde die Häminlösung mit Nitritpökelsalz und reduzierenden Substanzen versetzt und erhitzt, so konnte auch hier die Bildung eines besonderen Aromastoffes nicht beobachtet werden. Es trat jedoch eine Umrötung der braun-grünen Häminlösung und die Ausfällung eines roten wasserunlöslichen Stoffes auf.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß Myoglobin und Häm (Hämin) in Verbindung mit Nitrit und Stickstoffoxyd kein Aroma bilden.

3. Modellversuche mit Aminosäuren, reduzierenden Zuckern und Nitritpökelsalz

a) Methodik

Um den Einfluß der Reaktion zwischen Aminosäuren, reduzierenden Zuckern und Nitritpökelsalz auf die Entstehung des Pökelaromas zu prüfen, wurden mit diesen Substanzen Modellversuche durchgeführt. Dabei wurden Aminosäuremischungen, bestehend aus α - und β -Alanin, Cystein, Glutaminsäure, Serin, Glykokoll, Prolin, Leucin, Isoleucin und Methionin, wobei β -Alanin und Cystein den Hauptbestandteil darstellten, in wäßriger Lösung mit Xylose, Ribose und Glukose am Rückflußkühler drei Stunden mit Hilfe eines Glycerinbades auf 110°C erhitzt. Teilweise wurden den Mischungen noch Kreatin, Inosin, Inosit-Phosphatid "ICON" und 5'-Ribonucleotide zugesetzt. Ein Teil der Proben wurde vor, ein anderer nach dem Kochen am Rückflußkühler mit Nitritpökelsalz behandelt.

Nach einem Tag Lagerung wurden die Mischungen auf 80°C erhitzt und auf Geruchs- und Geschmacksbildung geprüft. Mit Nessler's Reagenz wurde auf Ammoniak und mit Bleiazetatlösung auf Schwefelwasserstoff untersucht.

b) Ergebnisse

Beim Erhitzen von Mischungen aus verschiedenen Aminosäuren und reduzierenden Zuckern in wäßriger Lösung entstanden gelbe bis braune Verbindungen, die einen bouillonähnlichen Geruch und Geschmack aufwiesen. Es wird angenommen, daß diese Verbindungen durch Umsetzungen vom Typ der Maillard-Reaktion entstehen. War Methionin ein Bestandteil der Aminosäuremischung, so entstand bei der Reaktion ein kartoffelähnliches Aroma. Wurden den Mischungen Inosin und Inosit-Phosphatid "ICON" zugesetzt, so trat zusätzlich eine starke "Fettkomponente" auf. Durch Kreatin konnte der bouillonähnliche Geschmack verstärkt werden.

In Wasser gelöste Zucker-Aminosäuremischungen, die vor oder nach dem Kochen am Rückflußkühler mit Nitritpökelsalz versetzt wurden, zeigten stets kurz nach der Nitritzugabe eine deutliche Braunfärbung, die bald darauf wieder verschwand. Bei der organoleptischen Untersuchung durch mehrere Personen konnten diese Proben stets aus einer Vielzahl von Mischungen aufgrund ihrer Pökelaromakomponente als die mit Nitrit behandelten herausgefunden werden.

Schwefelwasserstoff wurde nur festgestellt, wenn der Cysteingehalt der Aminosäuremischung relativ hoch war. Mit Nessler's Reagenz konnte kein Ammoniak nachgewiesen werden.

II. ISOLIERUNG UND IDENTIFIKATION EINIGER FLÜCHTIGER KOMPONENTEN AUS UMAROMATISIERTEM SCHWEINEFLEISCH

Die flüchtige Fraktion von rohem, gekochtem, bestrahltem sowie in neuester Zeit auch dauergepökeltem Fleisch ist größtenteils erforscht worden. Dagegen ließen sich über die flüchtige Fraktion von schnellgepökeltem Fleisch in der Literatur keine Angaben finden. Nachdem es als erwiesen gilt, daß gerade diese Substanzen wesentlich zum Geruch des Pökelfleisches beitragen, sollten in diesem Abschnitt einige flüchtige Komponenten isoliert und identifiziert werden.

1. Bestimmung von Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Kohlendioxyd und Stickstoffoxyd

a) Material und Methodik

CO_2 , NH_3 , H_2S und NO wurden qualitativ in gepökeltem und ungepökeltem Fleischextrakt bestimmt. Die Fleischextrakte wurden, wie in Abschnitt I, 1. a) beschrieben, hergestellt. Davon wurden stets 450 ml "ungepökelt" oder mit 2 % Nitritpökelsalz versetzt in einen 2 Liter fassenden Dreihalskolben verbracht. Auf diesem befand sich ein Kuckflußkühler, der durch einen PVC-Schlauch mit einer Sicherheitsfalle verbunden war, an die sich eine Waschflasche mit destilliertem Wasser und eine eiswassergekühlte Waschflasche, die das jeweilige Reagenz für das zu prüfende Gas enthielt, anschlossen. Die Lösungen im Kolben wurden langsam bis zum Kochen erhitzt und danach zwei Stunden mit einem Stickstoffstrom von 50 ml/min., der durch konzentrierte Schwefelsäure nachgereinigt wurde, durchblasen.

Ammoniak: Zur Bestimmung von NH_3 wurden in die eiswassergekühlte Waschflasche 50 ml Nessler's Reagenz ($2 \text{K}_2(\text{HgJ}_4) + 3 \text{KOH}$ in wäßriger Lösung) verbracht. Nach genau einer Stunde wurden zu der Lösung im Dreihalskolben zur Freisetzung des gebundenen Ammoniak 2 ml 10%ige NaOH zugegeben.

Kohlendioxyd: Die Luft in der Apparatur wurde durch Stickstoff verdrängt und die Reaktionswaschflasche nach 15 Minuten mit 50 ml Barytwasser beschickt.

Schwefelwasserstoff: Zur Prüfung auf H_2S wurden in die Waschflasche 50 ml 20%ige Bleiazetatlösung gefüllt.

Stickstoffoxyd: Nach vollständiger Umrötung des mit 2 % Nitritpökelsalz behandelten Fleischextraktes wurde dessen flüchtige Fraktion auf NO geprüft. Dazu wurden in die Reaktionswaschflasche 50 ml Grieb'sches Reagenz (0,5 g Sulfanilsäure und 2 g α -Naphthylamin in 150 ml 30%iger Essigsäure) verbracht,

b) Ergebnisse

Ammoniak: Bereits nach 30 Minuten trat eine orangegelbe Verfärbung des Nessler's Reagenz durch Entstehung von Oxydimercuriammoniumjodid, einem Derivat der Millon'schen Base, auf. Nach Zugabe von 2 ml 10%iger NaOH zu den Fleischextrakten veränderte sich die Farbe nach gelbbraun.

Kohlendioxyd: Durch CO_2 wurde aus dem Barytwasser weißes Bariumcarbonat ausgefällt.

Schwefelwasserstoff: Die Entstehung von schwarzem Bleisulfid bewies die Gegenwart von H_2S . Die Ausfällung des Sulfids nahm mit der Dauer des Kochens zu.

Stickstoffoxyd: Mit dem oben beschriebenen Reagenz wurde das NO nur indirekt nachgewiesen. Stickstoffoxyd zeigt eine große Tendenz zur Ergänzung seines unpaaren Elektrons zum Elektronenpaar durch Hydrolyse (116) ($NO + HOH \rightleftharpoons HNO_2 + e^- + H^+$). Durch die dabei entstehende salpetrige Säure wird die Sulfanilsäure diazotiert und kuppelt anschließend mit dem α -Naphthylamin zum intensiv roten p-Benzolsulfonsäure-azo- α -naphthylamin. Da bei der Pökung des Fleischextraktes mit 2 % Nitritpökelsalz eine sehr starke Rotfärbung des Grieb'schen Reagenz auftrat, wurden auch Extrakte probeweise mit nur 1 % Nitritpökelsalz behandelt. Auch hierbei kam es zu einer intensiven Rotfärbung.

Zusammenfassung kann festgestellt werden, daß bei der Erhitzung von gepökeltem und ungepökeltem Fleischextrakt unter Luftabschluß NH_3 , CO_2 und H_2S

entstehen. Bei gepökelttem Fleischextrakt konnte indirekt außerdem NO nachgewiesen werden.

Das destillierte Wasser in der zweiten Waschflasche wurde organoleptisch untersucht. Sein Geruch war ähnlich dem von gepökelttem bzw. ungepökelttem Fleischextrakt, dagegen war der Geschmack untypisch.

2. Analyse der niederen, flüchtigen Fettsäuren in gepökelttem Fleischextrakt

300 g zwei bis drei Tage altes abgehangenes mageres Schweinefleisch wurde von Fett befreit, gewolft und mit 600 ml Aqua dest. drei Stunden im Kühlschrank extrahiert. Das Gemisch wurde filtriert und mit 2 % Nitritpökelsalz, das 0,6 % Natriumnitrit enthielt, auf dem Wasserbad bis zur vollständigen Umrötung erhitzt. Danach wurde das Gemisch mit 50 ml 10%iger H_2SO_4 und 2 ml einer schaumverhindernden Silikonverbindung versetzt. In Vorversuchen wurde Stearinsäure als Antischaummittel verwendet, die Ausbeute an flüchtigen Fettsäuren verringerte sich jedoch dadurch beträchtlich. Erst später wurde bekannt (11), daß die Flüchtigkeit der niederen Fettsäuren bei der Wasserdampfdestillation durch die gleichzeitige Gegenwart nichtflüchtiger Fettsäuren stark behindert wird. Die Lösung wurde unter vermindertem Druck einer Wasserdampfdestillation unterzogen und ca. 2 l Destillat aufgefangen. Das Destillat wurde mit n/10 NaOH und Phenolphthalein als Indikator titriert (88). Es wurden im Durchschnitt 12 ml n/10 Lauge verbraucht. Das entspricht einem Carboxylgehalt von 17,6 mg/100 g Fleisch. Die Mischung wurde danach mit einem Vakuumrotationsverdampfer auf 50 ml eingengt und anschließend in einer Porzellanschale bis zur Trockne eingedampft. Die Salze wurden entweder mit 1 ml frischdestilliertem Äther oder 1 ml Aqua dest. überschichtet und danach die flüchtigen Säuren mit einigen Tropfen 10%iger H_2SO_4 in Freiheit gesetzt. Die entstandenen Lösungen wurden gaschromatographisch analysiert. Dazu wurde ein Fraktometer Typ F 6 der Firma Perkin-Elmer mit angeschlossenem Sargent-Schreiber SR verwendet. Als Trennsäule wurde die BA-Säule (Diäthylhexylsebacinat und Sebacinsäure auf Celite 545, Länge 2 m) von Perkin-Elmer benutzt.

Bei der Analyse der Ätherlösung wurden folgende Versuchsbedingungen gewählt: Hitzdrahtdetektor, Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases (Helium) 124 ml

pro Minute bei 2 Atmosphären Druck und einer Säulentemperatur von 150°C. Die Analyse der wäßrigen Lösung wurde mit einem Flammenionisationsdetektor (FID) mit vorgeschaltetem Strömungsteiler (Teilungsverhältnis 1 : 2, 5) durchgeführt. Die Trägergasgeschwindigkeit betrug bei einem Druck von 1 Atmosphäre und einer Temperatur von 150°C 46 ml pro Minute. Hierbei ergaben sich mit Testsubstanzen folgende Retentionszeiten und Retentionsvolumina:

Testsubstanz	Retentionszeit in Minuten		Retentionsvolumen in ml	
	Hitzdraht	FID	Hitzdraht	FID
Luft	0,4	-	47	-
Äther	0,7	1,4	87	64
Ameisensäure	3,0	6,2	372	285
Essigsäure	3,2	6,5	397	299
Propionsäure	5,4	10,5	669	501
Isobuttersäure	7,4	14,8	917	681
Buttersäure	9,2	18,3	1140	842

Bei der Analyse der Ätherlösung wurden die von Ritter und Hänni (88) gegebenen Hinweise berücksichtigt. Sowohl von der Ätherlösung als auch von der wäßrigen Lösung wurden stets 10 µl mit einer Mikroinjektionsspritze in den Trägergasstrom des Fraktometers injiziert. Die Ergebnisse der Analyse sind aus den Abbildungen 1 und 2 ersichtlich.

Neben Essigsäure wurde stets Buttersäure gefunden. Das Verhältnis von Essigsäure zu Buttersäure wurde durch Messung der Bandenfläche bestimmt. Die Bandenfläche erhält man in guter Annäherung durch Multiplikation der Peakhöhe mit der Peakbreite in halber Höhe (56). Durch mehrere Messungen wurden im Durchschnitt für den Flächenanteil von Essigsäure 52 %, für den von Buttersäure 48 % ermittelt. Das entspricht bei einem Carboxylgehalt von 17,6 mg/100 g Fleisch einem Buttersäuregehalt von 11,5 mg und einem Essigsäuregehalt von 12,5 mg.

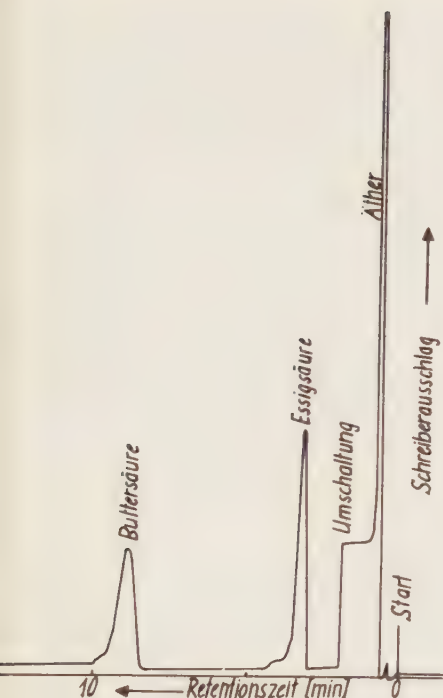


Abb. 1: Gaschromatogramm der flüchtigen Fettsäuren aus Ätherlösung; Hitzdrahtdetektor

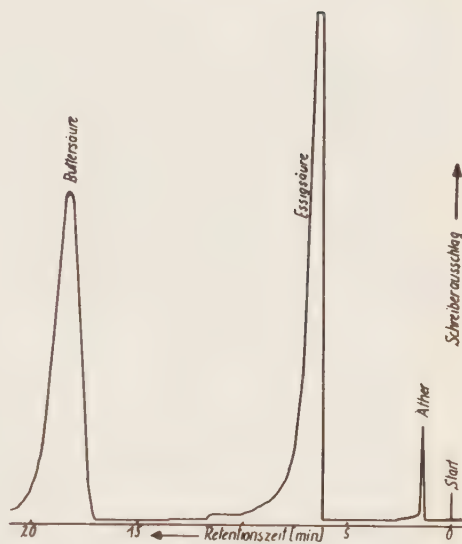


Abb. 2: Gaschromatogramm der flüchtigen Fettsäuren aus wäßriger Lösung; Flammenionisationsdetektor

3. Zur Untersuchung flüchtiger Carbonylverbindungen

a) Gewinnung der Carbonylverbindungen als Hydrazonderivate

Wasserdampfdestillation: 1200 ml Fleischextrakt, der wie bei der Untersuchung auf freie Fettsäuren gewonnen wurde, wurden mit 2 % Nitritpökelsalz bis zur Umfärbung auf dem Wasserbad erhitzt. Danach wurden 60 g NaCl, 1,5 g Na_2CO_3 und 1 g Stearinsäure zugesetzt. Durch das Kochsalz wurde die Löslichkeit der Carbo-

nylverbindungen verringert und damit die Destillationszeit verkürzt (105). Das Soda sollte die im Fleischextrakt enthaltenen flüchtigen Säuren neutralisieren; die Stearinsäure diene als Antischaummittel. Die Mischung wurde mit Wasserdampf in eine Vorlage destilliert, die 150 ml einer Lösung von 2 g 2,4-Dinitrophenylhydrazin in einem Liter 2n-Salzsäure (DNP-Reagenz) enthielt. Zur Fällung der besonders leicht flüchtigen Verbindungen wurde an die Vorlage eine eiswassergekühlte Falle mit 75 ml DNP-Reagenz angeschlossen. Durch dieses Reagenz werden die flüchtigen Carbonylverbindungen in ihre Hydrazonderivate übergeführt. Die Destillation wurde beendet, wenn 200 ml Destillat in der Vorlage aufgefangen waren. Die Lösungen in Falle und Vorlage wurden vereinigt und über Nacht stehengelassen. Danach wurden die ausgefällten Hydrazonderivate (DNPH) abfiltriert und mit 2 n HCl und destilliertem Wasser gewaschen. Außerdem wurden die gelösten DNPH nach Schormüller und Grosch (98) dreimal mit je 100 ml Chloroform extrahiert. Das Chloroform wurde im Vakuumrotationsverdampfer abdestilliert, der Rückstand mit den abfiltrierten DNPH vereinigt und anschließend in einem Vakuumexsikkator über Calciumchlorid getrocknet.

Destillation im Stickstoffstrom: 1200 ml Fleischextrakt wurden in einem zwei Liter fassenden Drehhalskolben mit 2 % Nitritpökelsalz versetzt und bis zur Umrötung erhitzt. Danach wurde die bei der Wasserdampfdestillation beschriebene Mischung hergestellt. Auf dem Kolben befand sich ein Rückflußkühler, der durch PVC-Schläuche mit vier eiswassergekühlten Fallen, die je 75 ml DNP-Reagenz enthielten, verbunden war. Die Mischung wurde sechs Stunden gekocht und ständig mit einem nachgereinigten Stickstoffstrom von 30 ml/min. durchblasen. Die Hydrazonderivate wurden auf die oben beschriebene Art aus dem DNP-Reagenz gewonnen.

Mit beiden Destillationsmethoden wurden auch die DNPH der flüchtigen Carbonylverbindungen von ungekökeltem Fleischextrakt gewonnen.

- b) Trennung und Identifikation der Carbonylverbindungen bzw. ihrer Hydrazonderivate

Gaschromatographische Analyse: Zur gaschromatographischen Analyse müssen die Carbonylverbindungen aus ihren Hydrazonderivaten wieder freigesetzt werden. Dazu wurde eine von ten Hoopen (105) beschriebene Modifikation der Methode von Ralls (86) verwendet, die für den am Fraktometer F 6 von

Perkin-Elmer befindlichen Einspritzblock abgeändert wurde (Abb. 3). Dabei werden die Carbonylverbindungen aus ihren DNPH durch eine Reaktion der Hydrazon-derivate mit α -Ketoglutar säure bei 250°C freigesetzt und direkt in die Säule eines Gaschromatographen getrieben.

Bei den durchgeführten Untersuchungen wurden die Carbonylverbindungen folgendermaßen freigesetzt: In ein einseitig zugeschmolzenes, dünnwandiges Glasröhrchen von 22 cm Länge und 1,8 mm Innendurchmesser wurden der Reihe nach ca. 5 mg Natriumhydrogencarbonat, 1 mg Celite und eine Mischung aus 6 mg DNPH mit der dreifachen Gewichtsmenge α -Ketoglutar säure gefüllt. Das Glasröhrchen wurde nach der Füllung etwa 11 cm vom zugeschmolzenen Ende in einem Winkel von 60° abgebogen. Das offene Ende des Röhrchens wurde zu einer Kapillare ausgezogen, die ungefähr den Durchmesser der Nadel einer Mikroinjektionsspritze besaß.

Trotz anfänglicher Schwierigkeiten beim Einführen der spröden Glaskapillare durch den relativ dicken Silicongummi in den Einspritzblock des Fraktometers konnten später sehr befriedigende Ergebnisse erzielt und ein Bruch der Kapillare vermieden werden. Das verschlossene Ende des Glasröhrchens wurde 30 sec. lang in ein auf 250°C erhitztes Siliconölbäd getaucht.

Die gaschromatographische Analyse erfolgte ebenfalls mit dem Perkin-Elmer Fraktometer F 6 mit Flammenionisationsdetektor. Dieser Detektor hat gegenüber dem in Vorversuchen benutzten Hitzdrahtdetektor neben seiner größeren Anzeigerempfindlichkeit den Vorteil, daß er unempfindlich gegenüber Änderungen des Trägergasdruckes bzw. Gasmengenstroms ist. Außerdem zeigt er weder das bei der Erhitzung aus Natriumhydrogencarbonat entstehende CO_2 noch Wasser an. Als Schreiber wurde das Modell Sargent SR benutzt. Die Carbonylverbindungen wurden mit der R-Säule (Polypropylenglykol (Ucon LB-550 X) auf Celite 545, Länge 2 m) und der AM-Säule (Apiezonfett M auf Chromosorb R, Länge 2 m) von Perkin-Elmer getrennt.

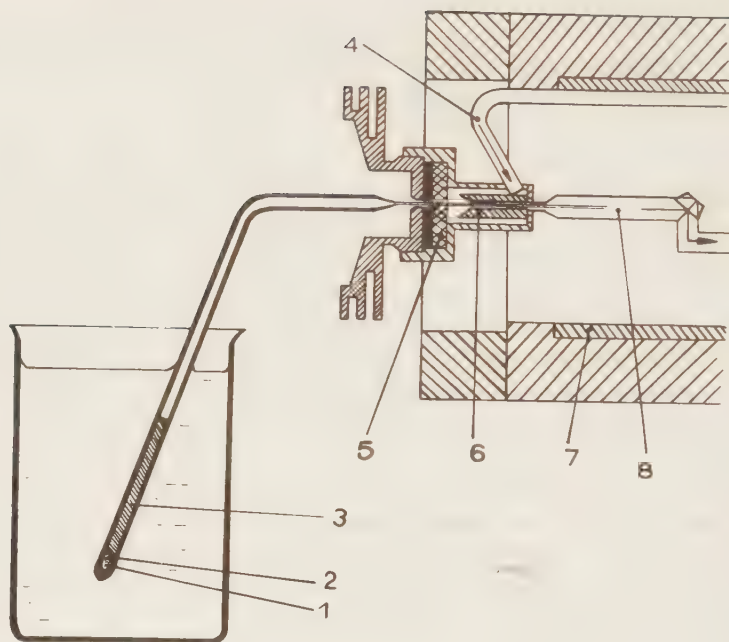


Abb. 3: Einführung des Glasröhrchens in den Einspritzblock⁺⁾ und Freisetzung der Carbonylverbindungen aus den Hydrazonderivaten

Zeichenerklärung: 1 NaHCO_3
 2 Celite
 3 α -Ketoglutar säure und DNPH
 4 Trärgaseintritt
 5 Silicongummi
 6 Nadelführung
 7 Ringheizkörper
 8 Verdampfungsraum

⁺⁾ Der Firma Perkin -Elmer danke ich für die Erlaubnis zum Abdruck des Einspritzblocks.

Versuchsbedingungen für die gaschromatographische Analyse:

R-Säule:

Temperatur: 80°C

Trärgas: Helium 30 ml/min.

Druck: 1,04 kg/cm²

Temperatur: 120°C

Trärgas: Helium 32 ml/min.

Druck: 1,04 kg/cm²

Mit Testsubstanzen ergaben sich folgende Retentionszeiten und Retentionsvolumina:

Testsubstanz	Retentionszeit in Minuten		Retentionsvolumen in ml	
	80°C	120°C	80°C	120°C
Formaldehyd	1,3	1,2	39	38,4
Acetaldehyd	1,6	1,3	54	41,6
Methylglyoxal	2,0	1,4	60	44,8
Propanal	2,0	1,4	60	44,8
Aceton	2,15	1,45	64,5	45,4
Isobutanal	2,75	1,7	82,5	54,4
Butanal	3,55	2,0	106,5	64
Äthylmethylketon	3,9	2,05	117	65,6
Diacetyl	4,2	2,15	126	68,8
Isopentanal	5,2	2,7	156	86,4
Crotonaldehyd	7,05	3,15	210	100,8
Pentanal	7,1	3,2	213	102,4
Hexanal	14,5	5,5	435	176
Hex-2-enal	28,2	8,8	845	278
Heptanal	30,3	9,75	909	312

Die Trennung mit der AM-Säule erfolgte bei einer Säulentemperatur von 80°C, die Strömungsgeschwindigkeit des Heliums betrug 30 ml/min. bei einem Druck von 1,05 Atmosphären. Dabei wurden für Testsubstanzen folgende Retentionszeiten und Retentionsvolumina gemessen:

Testsubstanz	Retentionszeit in Minuten	Retentionsvolumen in ml
Formaldehyd	1,2	36
Acetaldehyd	1,4	42
Aceton	1,45	42,9
Methylglyoxal	1,6	48
Propanal	1,7	51
Isobutanal	2,05	61,5
Diacetyl	2,25	67,5
Äthylmethylketon	2,5	75
Butanal	2,6	77,4
Crotonaldehyd	3,5	105
Isopentanal	3,8	114
Pentanal	5,1	153
Hexanal	10,8	324
Hex-2-enal	14,7	441
Heptanal	23,2	696

Papierchromatographische Analyse: Ein Nachteil der verwendeten gaschromatographischen Methode liegt in der schlechten Trennung der Carbonylverbindungen mit weniger als 4 C-Atomen. Um gerade für diese Substanzen noch weitere Anhaltspunkte für eine Identifikation zu erhalten, wurden die Hydrazonderivate papierchromatographisch getrennt.

In Vorversuchen wurde nach den Angaben von Rothe (90) Hexan als mobile Phase verwendet. Da die Trennung der DNPH mit dieser Methode nicht befriedigte, wurde später ein von Horner und Kirmse (46) beschriebenes System mit Dekalin als Fließmittel benutzt.

Chromatographiebedingungen:

Die DNPH wurden in Chloroform gelöst auf das Papier aufgetragen.

Papier: Schleicher & Schüll 2045 b M

Imprägnierung: 30%ige ätherische N,N-Dimethylformamidlösung;

Abdunsten des Äthers bei Zimmertemperatur

Fließmittel: Dekalin gesättigt mit N,N-Dimethylformamid.

Zur Trennung wurde die aufsteigende Technik benutzt. Die Laufzeit betrug meist 22 Stunden. Danach wurden die Chromatogramme zur Intensivierung der Flecken mit 10%iger wässriger KOH besprüht.

c) Ergebnisse

Gaschromatographische Untersuchungen: Die Ergebnisse der Untersuchungen auf flüchtige Carbonylverbindungen von gepökeltem Fleischextrakt sind aus den Abbildungen 4, 5 und 6 ersichtlich:

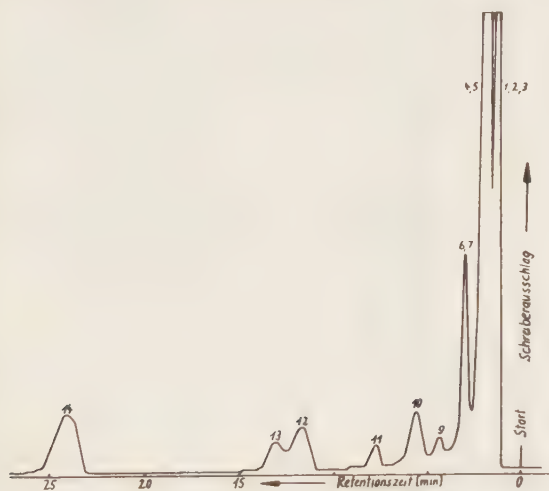


Abb. 4: Gaschromatogramm der flüchtigen Carbonylverbindungen von gepökeltem Fleischextrakt; AM-Säule, 80°C

Zeichenerklärung:

- 1 Formaldehyd
- 2 Acetaldehyd
- 3 Aceton
- 4 Propanal
- 5 Isobutanal
- 6 Butanal
- 7 Äthylmethylketon
- 8 Diacetyl
- 9 Isopentanal
- 10 Pentanal
- 11 Isohexanal
- 12 Hexanal
- 13 Isoheptanal
- 14 Heptanal

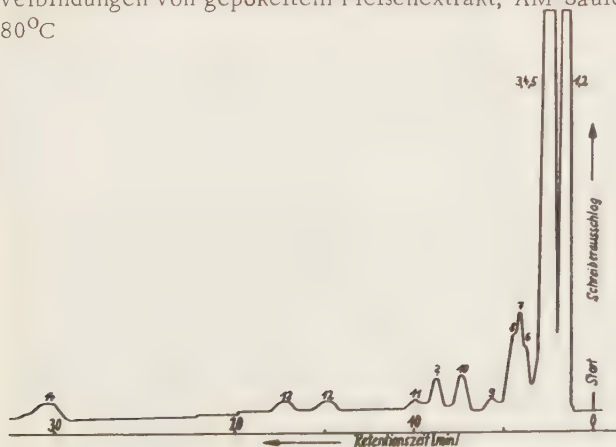
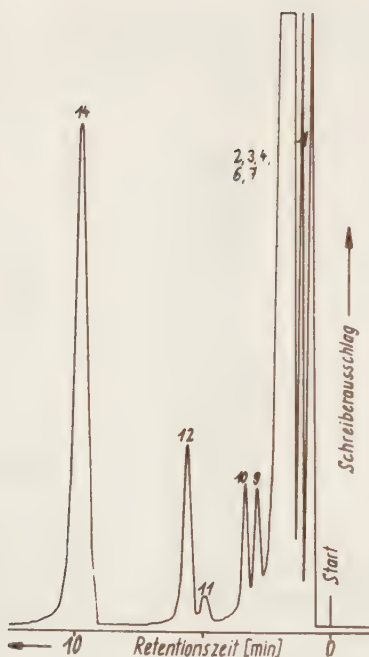


Abb. 5: Gaschromatogramm der flüchtigen Carbonylverbindungen von gepökeltem Fleischextrakt; R-Säule, 80°C



Zeichenerklärung:

- 1 Formaldehyd
- 2 Acetaldehyd
- 3 Aceton
- 4 Propanal
- 6 Butanal
- 7 Äthylmethylketon
- 9 Isopentanal
- 10 Pentanal
- 11 Isohexanal
- 12 Hexanal
- 14 Heptanal

Abb. 6: Gaschromatogramm der flüchtigen Carbonylverbindungen von gepökeltem Fleischextrakt; R-Säule, 120°C

Die erhaltenen Peaks wurden zunächst versuchsweise durch Vergleich ihrer Retentionszeiten mit denen von Testsubstanzen unter Verwendung der R-Säule bei 80°C und 120°C und der AM-Säule bei 80°C identifiziert. Der erste unbezifferte Peak in den Abbildungen 6 und 9 wurde auch bei Blindproben erhalten. Die breiten Banden auf den Chromatogrammen beinhalten mit größter Wahrscheinlichkeit mehrere Verbindungen. Diese wurden unter Berücksichtigung der folgenden papierchromatographischen Ergebnisse mit Hilfe ihrer Retentionszeiten identifiziert. Die unscharf getrennten Banden 6, 7 und 8 in Abb. 5 wurden auch erhalten, wenn Butanal, Äthylmethylketon und Diacetyl in entsprechender Mischung zusammen injiziert und mit der R-Säule bei 80°C getrennt wurden. Peak 14 kann-

te sicher durch Zumischen des gereinigten Hydrazonderivates von Heptanal zum DNPH-Gemisch der Proben erkannt werden. Dabei ergab sich sowohl bei der Untersuchung mit der AM-Säule als auch bei der mit der R-Säule eine Vergrößerung der Bande 14. Die Identität der n-Alkanale und Isoalkanale mit vier bis sieben C-Atomen wurde durch Darstellung ihrer relativen Retentionsvolumina (Bezugssubstanz: Heptanal) in Abhängigkeit von der Anzahl der Kohlenstoffatome auf halblogarithmischem Papier gesichert (56). Für die Glieder der homologen Reihen (Abb. 7 und 8) wurde durch Verbindung der Bildpunkte eine Gerade erhalten.

Logarithmen der relativen Retentionsvolumina in Abhängigkeit von der Anzahl der C-Atome der n-Alkanale und Isoalkanale:



Abb. 7: R-Säule, 80°C

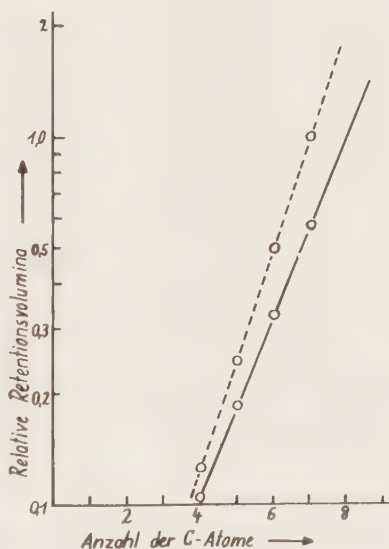


Abb. 8: AM-Säule, 80°C

Zeichenerklärung: ----- n-Alkanale, ————— Isoalkanale

Die Untersuchung der flüchtigen Carbonylverbindungen von ungepökeltem Fleischextrakt ergab wesentlich weniger Peaks als die Analyse der flüchtigen Carbonyle von gepökeltem Fleischextrakt. Die Ergebnisse der Analyse sind aus den folgenden Abbildungen zu entnehmen.

Gaschromatogramme der flüchtigen Carbonylverbindungen von ungepökeltem Fleischextrakt:

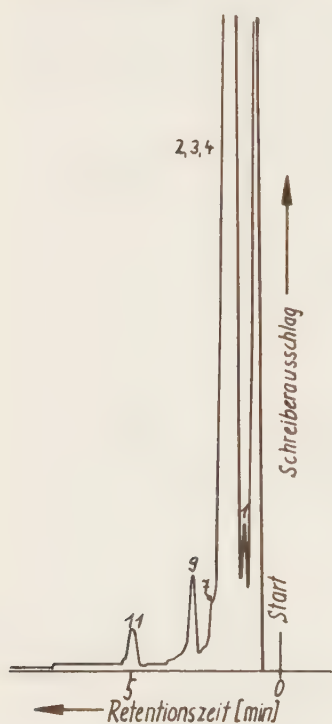


Abb. 9: R-Säule, 120°C



Abb. 10: AM-Säule, 80°C

Zeichenerklärung:

1	Formaldehyd
2	Acetaldehyd
3	Aceton
4	Propanal

7	Äthylmethylketon
9	Isopentanal
11	Isohexanal

Die Zusammensetzung der durch Wasserdampfdestillation bzw. Destillation im Stickstoffstrom gewonnenen Carbonylverbindungen zeigte weder bei gepökeltem noch bei ungepökeltem Fleischextrakt signifikante Unterschiede.

Papierchromatographische Untersuchungen: Für die Identifikation der Flecken war das Mitlaufen von Vergleichssubstanzen erforderlich. Dazu wurden von den bei der gaschromatographischen Analyse identifizierten oder vermuteten Aldehyden und Ketonen die Hydrazonderivate gewonnen, gereinigt, getrocknet und zweimal in Alkohol umkristallisiert. Die R_f -Werte der einzelnen Substanzen wurden nicht bestimmt. Die DNPH von Propanal und Äthylmethylketon sowie die von Butanal, Isobutanal und Aceton hatten die gleiche Laufzeit und konnten nicht getrennt werden. Gute Hinweise auf die Identität der Flecken konnte die Farbe der Hydrazonderivate nach Besprühen mit einer 10 %igen KOH geben. Den kleinsten R_f -Wert hatte das Hydrazonderivat von Methylglyoxal. Die verwendete Testsubstanz wies jedoch erhebliche Verunreinigungen auf, so daß bei der Papierchromatographie neben einem am Startpunkt haftenden blauen Fleck mit blauem Hof ein weiterer Fleck mit orangeroter Färbung auftrat (Abb. 11; 8 Fleck 2). Die blaue Färbung des DNPH von Methylglyoxal wurde nach Besprühen mit KOH auch von Rothe (90) festgestellt. Ein schwer vom Startpunkt zu entfernter Fleck mit blauem Hof wurde auch bei dem DNPH-Gemisch von gepökeltem Fleischextrakt festgestellt. Die Flecken, die den DNPH von Formaldehyd und Acetaldehyd entsprachen, waren orangebraun bzw. rotbraun gefärbt. Sie wurden bei der Papierchromatographie des DNPH-Gemischs von gepökeltem und ungepökeltem Fleischextrakt gefunden. Bei beiden DNPH-Gemischen wurden noch zwei weitere Flecken festgestellt. Der eine hatte die gleiche Laufzeit wie die DNPH von Äthylmethylketon und Propanal; der Farbe nach (dunkelbraun) bestand er hauptsächlich aus dem Hydrazonderivat von Propanal, zum geringeren Teil aus dem von Äthylmethylketon. Dies entspricht auch den Ergebnissen der gaschromatographischen Analyse. Der andere Fleck war graubraun und hatte die gleiche Laufzeit wie die DNPH von Aceton, Butanal und Isobutanal. Höchstwahrscheinlich bestand er vor allem aus dem DNPH von Aceton. Außerdem wurde bei der Papierchromatographie des DNPH-Gemischs von gepökeltem Fleischextrakt ein gelbbrauner Fleck festgestellt, der die gleiche Laufzeit wie das Hydrazonderivat von Heptanal hatte.



Zeichenerklärung:

- 1: DNPH-Mischung von gepökeltem Fleischextrakt; Wasserdampfdestillation
- 2: DNPH-Mischung von gepökeltem Fleischextrakt; Destillation im Stickstoffstrom
- 3: Test-DNPH-Gemisch; Flecken von unten nach oben:
Formaldehyd
Acetaldehyd
Propanal und Äthylmethylketon
Aceton und Butanal
Heptanal

Abb. 11: Papierchromatogramm von Hydrazonderivaten



Zeichenerklärung:

- 6: DNPH-Gemisch von ungepökeltem Fleischextrakt; Wasserdampfdestillation
- 7: DNPH-Gemisch von gepökeltem Fleischextrakt; Mischung der DNPH von Wasserdampfdestillation und Destillation im Stickstoffstrom
- 8: Test-DNPH-Mischung; Flecken von unten nach oben:
Methylglyoxal
Verunreinigung von Methylglyoxal
Formaldehyd
Acetaldehyd
Propanal und Äthylmethylketon
Aceton und Butanal
Pentanal, Hexanal

Abb. 12: Papierchromatogramm von Hydrazonderivaten

Von den aus gepökeltem Fleischextrakt gewonnenen Carbonylverbindungen konnten durch Papier- und Gaschromatographie folgende einwandfrei identifiziert werden: Formaldehyd, Acetaldehyd, Propanal, Aceton, Butanal, Äthylmethylketon, Isopentanal, Pentanal, Isohexanal, Hexanal, Isoheptanal und Heptanal. Methylglyoxal wurde nur papierchromatographisch anhand seiner geringen Laufzeit und blauen Färbung nach Besprühen mit KOH identifiziert. Diacetyl konnte nur aufgrund seiner Retentionszeit bei der Trennung mit der R-Säule bei 80°C vermutet werden. Die Identität dieses Peaks ist nicht gesichert. Außerdem wurde mit dieser Säule zwischen den Peaks 10 und 11 (Pentanal und Isohexanal) ein Peak erhalten, der nicht identifiziert werden konnte.

Aus dem DNPH-C Gemisch von ungepökeltem Fleischextrakt wurden Formaldehyd, Acetaldehyd, Propanal, Aceton, Äthylmethylketon, Isopentanal und Isohexanal isoliert und identifiziert.

D. DISKUSSION

Die Zusammensetzung der Aromavorläufer von rohem und gekochtem Fleisch wurde in den letzten Jahren eingehend bearbeitet. Außerdem wurden die besonders geruchswirksamen Verbindungen von rohem, gekochtem, bestrahltem, und in neuester Zeit auch von dauergepökeltem Fleisch isoliert und identifiziert. Von den Produkten, die bei der Reaktion zwischen Salzen der salpetrigen Säure und Muskelbestandteilen gebildet werden, ist nur der Pökelfarbstoff intensiv erforscht worden. Über andere Verbindungen, die bei dieser Reaktion entstehen können, gibt es in der Literatur eine Vielzahl von Andeutungen, jedoch keine praktischen Ergebnisse. Die Möglichkeit, daß gerade diese Substanzen an der Entstehung des Grundpökelaromas beteiligt sind, gab Veranlassung, im Rahmen dieser Untersuchungen einige Muskelbestandteile zusammen mit Nitritpökelsalz auf Aromabildung zu prüfen. Außerdem wurde die Zusammensetzung der flüchtigen Fraktion von umgeröteten Fleischextrakten untersucht.

Die Aromavorläufer des ungepökelten Fleisches bestehen aus wasserlöslichen Verbindungen (4, 47, 63, 66, 67, 113), vor allem aus dialysierbaren Kohlehydraten und Ninhydrin-positiven Substanzen sowie wasserlöslichen Proteinen (4, 5). Eigene Untersuchungen bestätigten die Feststellung von McLean und Mitarbeitern (68), daß auch die Aromastoffe des Pökelfleisches wasserlöslich sind. Träger des Pökelaromas sind die obengenannten Verbindungsklassen, die mit dem Nitritanion bzw. seinen Abbauprodukten reagieren. Durch diese Reaktionen kommt es offenbar zur Entstehung des typischen Grundpökelaromas. Die einzelnen Verbindungsklassen ergeben für sich allein mit Nitrit kein volles Pökelaroma. Die nicht dialysierbare Proteinfraction liefert eine stärkere Aromakomponente als die niedermolekularen Verbindungsklassen. Von Baker (MacDonald College of McGill University, Quebec, Canada) erfuhren wir nach Abschluß der eigenen Untersuchungen, daß er bei noch nicht veröffentlichten Parallelversuchen ähnliche Ergebnisse erhielt.

Beim Eindampfen der niedermolekularen Fraktion kam es sehr bald zur Bräunung des zuerst weißen, kristallinen Rückstandes. Die Ursachen der Farbänderung sind offenbar Umsetzungen vom Typ der Maillard-Reaktion. Diese Reaktion wurde auch für die Bräunung dialysierter Ochsenmuskelextrakte (114) und eiweißfreier Ultrafiltrate von Fleisch (65) verantwortlich gemacht. Neben der allgemeinen Annahme, daß das Pökelaroma durch Reaktionen von Muskelbestandteilen mit

Nitrit entsteht (15, 16, 25, 33, 35, 36, 52, 104, 111), führte man die Aromabildung auch auf Umsetzungen des Myoglobins mit Nitrit zurück (33, 35, 36). Dagegen konnte in eigenen Untersuchungen gezeigt werden, daß rein hergestelltes Myoglobin und Hamin mit Nitrit kein Pökelaroma bilden. Umgerötetes Myoglobin ergibt auch zusammen mit ungepökelttem Diffusat von Fleischextrakt kein Pökelaroma.

Obwohl bestimmte Aminosäuren integrierende Bestandteile der Aromavorläufer des Fleisches darstellen (5, 66, 67), konnte durch Aminosäuren- und Nitritzusatz zu ausgewaschenem Fleisch kein Pökelaroma erzeugt werden (35, 36). Nach Versetzen von gelösten Aminosäuren mit Nitrit entstanden zwar charakteristische Geruchs- und Geschmacksstoffe ("gedämpfte, ungeschälte Kartoffeln"), jedoch kein Pökelaroma.

Auch durch Behandeln der ausgewaschenen Fleischfasern mit Nitrit wurde kein Pökelaroma gebildet. Dies stimmt mit der Geruch- und Geschmacklosigkeit des ungepökelten Fleischrückstandes überein (29, 47, 63, 78); dagegen meinen andere Autoren (12, 21), daß sich das Aroma in der Faser entwickelt bzw. an sie gebunden ist. Mehrere Verfasser (35, 104, 106) nehmen an, daß die Reaktion der freien Aminogruppen mit Nitrit (Van-Slyke-Reaktion) bei der Entstehung des Pökelseschmacks eine Rolle spielt, zumal Nitrit auch mit Muskeleiweiß in kurzer Zeit reagiert (16). Neben den dabei gebildeten Hydroxysäuren, Nitrosaminen und Diazoniumverbindungen könnten auch Intermediärprodukte wie Oxime, Nitromethan und Methylnitrolsäure (1, 2) zum Pökelaroma beitragen.

Die Maillard-Reaktion wurde schon des öfteren als Möglichkeit für die Entstehung des Aromas von gekochtem Fleisch und Fleischextrakt in Betracht gezogen (8, 33, 65, 66, 67, 114), zumal beim Erhitzen von Mischungen verschiedener Aminosäuren mit reduzierenden Zuckern unter Bildung farbiger Produkte ein fleischähnliches Aroma entsteht (5, 72). Eigene Untersuchungen konnten diese Feststellungen bestätigen. Durch Zusatz von Nitritpökelsalz zu Zucker-Aminosäuremischungen vor oder nach dem Erhitzen entstand eine typische Pökelaromakomponente. Der Mechanismus dieser Reaktion wurde nicht näher untersucht. Die Beeinflussung der Maillard-Reaktion durch Nitrit sollte im Rahmen weiterer Untersuchungen geprüft werden. Da im Fleisch stets gewisse Mengen von freien Aminosäuren (34, 37, 38, 65, 66, 67) und reduzierenden Zuckern (41, 66, 67, 114) vorhanden sind und die Schnellpökung meist unter Erhitzung des Fleisches stattfindet, kann mit dem Ablauf dieser Reaktion bei der Umaromatisierung gerechnet werden.

Daß Ammoniak, Schwefelwasserstoff und Kohlendioxyd Bestandteile der flüchtigen Fraktion von gekochtem Fleisch sind, wurde bereits von mehreren Autoren (24, 33, 47, 64, 115) festgestellt. Ammoniak und Kohlendioxyd können im frischen, gekochten Fleisch als Produkte der Maillard-Reaktion durch eine oxydative Desaminierung und Decarboxylierung von Aminosäuren entstehen, wobei aus letzteren die entsprechenden Aldehyde gebildet werden. Zur Bildung von Schwefelwasserstoff kommt es durch das Aufbrechen der S-S-Bindungen in den Proteinen beim Erhitzen des Fleisches (33). Es ist anzunehmen, daß Ammoniak und Schwefelwasserstoff aufgrund ihrer niedrigen Geschmacksschwellen charakteristische Bestandteile des Aromas von gekochtem Fleisch sind (78). Bei der Untersuchung der flüchtigen Fraktion von gepökeltem Fleischextrakt wurde außerdem Stickstoffoxyd festgestellt. Dieses entsteht im p_H -Bereich des Fleisches aus salpetriger Säure und wird bei Luftzutritt sehr schnell zum Stickstoffdioxyd oxydiert. Stickstoffdioxyd hat einen typischen, stechenden Geruch und könnte die Ursache der "nitrosen" Komponente des Aromas von gepökeltem Fleisch darstellen. Koller (59) wies darauf hin, daß in Pökelräumen immer Stickstoffdioxyd nachzuweisen ist; nach ten Cate (104) verursacht es den typischen Geruch dieser Räume.

Die niederen, flüchtigen Fettsäuren wurden gaschromatographisch bestimmt. Bei den Untersuchungen wurden Essig- und Buttersäure festgestellt. Der gefundene Buttersäuregehalt von 11,5 mg/100 g Fleisch stimmt gut mit dem Wert überein, den Grossfeld und Battay (40) bei ungepökeltem, gehacktem Schweinefleisch fanden (10,2 mg/100 g Fleisch). Essig- und Buttersäure wurden neben anderen flüchtigen Säuren auch von Yueh und Strong (115) in gekochtem Rindfleisch und von Ockerman und Mitarbeitern (77) in trockengepökeltem Schinken festgestellt. Blumer (9) isolierte Essigsäure aus Landschinken. Essig- und Buttersäure stellen wichtige Zwischenprodukte des intermediären Stoffwechsels dar.

Die Literaturangaben über den Geschmacksschwellenwert von Buttersäure sind uneinheitlich (40, 79, 91, 100). Die mittlere Nachweisgrenze liegt bei $2,5 \cdot 10^{-5}$ g Buttersäure in 100 ml Wasser. Für den organoleptischen Nachweis in Fleisch sind keine Schwellenwerte bekannt. Die gefundene Buttersäure dürfte jedoch ausreichen, um an der Bildung des Fleischaromas beteiligt zu sein; bei der Essigsäure ist dies bestimmt nicht der Fall.

Untersuchungen der Carbonylverbindungen von gepökeltem und ungepökeltem Fleischextrakt ergaben, daß die flüchtige Fraktion von ungepökeltem Fleisch-

extrakt wesentlich weniger Carbonyle enthält als die von gepökeltem. Als Ursache hierfür werden Reaktionen des Nitrits mit Bestandteilen der niedermolekularen Fraktion des Fleisches, insbesondere mit den Aminosäuren, angenommen. Es besteht allerdings auch - wie schon angedeutet wurde - die Möglichkeit, daß das Nitritanion bzw. seine Abbauprodukte in die Umsetzungen der Maillard-Reaktion eingreifen. Durch Papier- und Gaschromatographie konnten aus gepökeltem und ungepökeltem Fleischextrakt folgende Carbonyle isoliert und identifiziert werden: Formaldehyd, Acetaldehyd, Propanal, Aceton, Äthylmethylketon, Isopentanal und Isohexanal; nur in der flüchtigen Fraktion von gepökeltem Fleischextrakt wurden gefunden: Butanal, Pentanal, Hexanal, Heptanal, Isoheptanal und Methylglyoxal. Diacetyl konnte nicht sicher identifiziert werden. Bemerkenswert ist, daß die n-Alkanale mit vier bis sieben C-Atomen nur bei den gepökelten Proben festzustellen waren. Dabei kommt Heptanal in größerer Konzentration vor als die anderen Alkanale. Mit Ausnahme von Butanal, Isohexanal, Heptanal, Isoheptanal und Methylglyoxal wurden alle aufgeführten Carbonylverbindungen bereits von anderen Autoren in der flüchtigen Fraktion von Fleisch gefunden. Besonders oft wurden Acetaldehyd (7, 18, 47, 64, 70, 77, 82, 115), Aceton (7, 47, 64, 70, 77, 82, 115) und Äthylmethylketon (7, 70, 77, 82) festgestellt. Mehrere Untersucher fanden Propanal (7, 77, 82), Diacetyl (77, 82, 115), Formaldehyd (47, 77), Isobutanal (7, 77) und Isopentanal (7, 77). Pentanal wurde von Ockerman und Mitarbeitern (77) aus trockengepökeltem Schinken, Hexanal von Phippen und Mitarbeitern (82) aus Hühnerfleisch isoliert.

Die Entstehung einiger dieser Carbonylverbindungen läßt sich mit dem Abbau von Aminosäuren nach Strecker erklären. So wird beispielsweise Formaldehyd aus Glykokoll, Acetaldehyd aus Alanin und Propanal aus α -Aminobuttersäure gebildet. Spuren von Aceton treten stets im Stoffwechsel auf (94). Die Bildung des Methylglyoxals läßt sich nach Rothe (90) durch eine Reaktion des aus Threonin entstehenden α -Oxypropanal mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin erklären.

Obwohl die Carbonylverbindungen nur qualitativ bestimmt wurden, ist anzunehmen, daß sie aufgrund ihrer teilweise sehr niedrigen Geschmacksschwellen einen Bestandteil des Aromas von gepökeltem und ungepökeltem Fleischextrakt darstellen. Eine endgültige Beurteilung über die Bedeutung der Carbonyle für das Aroma dieser Fleischextrakte erlauben die unternommenen Versuche jedoch nicht.

E. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Die Aromastoffe des gepökelten Schweinefleisches sind wasserlöslich. Das typische Pökelaroma entsteht durch Reaktionen des Nitrits mit wasserlöslichen Proteinen und niedermolekularen Verbindungen des Fleisches. Der Muskelfarbstoff und seine Derivate sind an der Bildung dieses Aromas nicht beteiligt.
2. Beim Erhitzen von verschiedenen Aminosäuren und reduzierenden Zuckern in wäßriger Lösung entsteht unter Bildung farbiger Produkte ein fleischähnliches Aroma. Nach Nitritzusatz zu diesen Mischungen tritt eine Pökelaromakomponente auf.
3. Ammoniak, Schwefelwasserstoff und Kohlendioxyd sind Bestandteile der flüchtigen Fraktion von gekochtem Fleischextrakt. Wird Fleischextrakt gepökelt, so kann zusätzlich noch Stickstoffoxyd nachgewiesen werden.
4. Die niederen, flüchtigen Fettsäuren wurden durch Wasserdampfdestillation von gepökelttem Fleischextrakt gewonnen und gaschromatographisch qualitativ und quantitativ bestimmt. In 100 g Fleisch wurden 11,5 mg Buttersäure und 12,5 mg Essigsäure gefunden.
5. Durch Wasserdampfdestillation und Destillation im Stickstoffstrom wurden die flüchtigen Carbonylverbindungen von gepökelttem und ungepökelttem Fleischextrakt isoliert, als 2,4-Dinitrophenylhydrazone ausgefällt und diese gas- sowie papierchromatographisch getrennt. Formaldehyd, Acetaldehyd, Propanal, Aceton, Äthylmethylketon, Isopentanal und Isohexanal wurden als Bestandteile dieser Fleischextrakte identifiziert. Gepökelter Fleischextrakt enthielt außerdem Butanal, Pentanal, Hexanal, Heptanal, Isoheptanal und Methylglyoxal.

F. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Abdel-Akher, M.A., und W.M. Sandstrom:
The abnormal reaction of glycine and related compounds with nitrous acid. Arch. Biochem. 30 (1951), 407;
2. Austin, A.T.: The deamination of amino-acids by nitrous acid with particular reference to glycine. J. Chem. Soc. 1 (1950), 149;
3. Ballance, P.E.: Production of volatile compounds related to the flavour of foods from the Strecker degradation of DL-methionine. J. Sci. Food Agric. 12 (1961), 532;
4. Batzer, O.F., A.T. Santoro, M.L. Tan, W.A. Landmann und B.S. Schweigert:
Precursors of beef flavor. J. Agric. Food Chem. 8 (1960), 498;
5. Batzer, O.F., A.T. Santoro und W.A. Landmann:
Identification of some beef flavor precursors. J. Agric. Food Chem. 10 (1962), 94;
6. Bechthold, E.: Der Muskelfarbstoff und die reversiblen Umwandlungsbeziehungen zwischen Myoglobin und Cytochrom im Schlachttiermuskelfleisch, mit besonderer Berücksichtigung einschlägiger fleischerfachgewerblicher Fragen, Stuttgart; zit. n. Koller (59);
7. Bender, A.E., und P.E. Ballance:
A preliminary examination of the flavour of meat extract. J. Sci. Food Agric. 12 (1961), 683;
8. Bender, A.E., T. Wood und J.A. Palgrave:
Analysis of tissue constituents. Extract of fresh ox-muscle. J. Sci. Food Agric. 9 (1958), 812;

- Slumer, T.N.: Chemical compounds associated with aged ham flavor. Ph. D. thesis. Michigan State Univ. Library, East Lansing; zit. n. Ockerman und Mitarbeitern (77);
10. Söhm, A.: Untersuchungen über das Vorkommen freier Purinbasen in rohem und gepökeltem Schweinefleisch. Jahresber. d. Bundesforschungsanstalt f. Fleischwirtschaft 1957, S. 91;
11. Söhm, A., und J. Grossfeld:
Fette und Öle. Handbuch der Lebensmittelchemie, Verlag von Julius Springer, Berlin, 1939, Bd. 4, S. 78;
12. Southilet, R.J.: Chicken flavor; Separation and concentration of its volatile components from broth. Food Res. 15 (1950), 322;
13. Southilet, R.J.: Chicken flavor; The fractionation of the volatile constituents. Food Res. 16 (1951), 137;
14. Southilet, R.J.: Chicken flavor; The source of the meat flavor components. Food Res. 16 (1951), 201;
15. Brooks, J., R.B. Haines, T. Moran und J. Pace:
The function of nitrite, nitrate and bacteria in the curing of bacon and hams. Investigation Board 1940, Special Report No. 49;
16. Brooks, J., und J. Pace:
The manometric estimation of nitrite in solution and in tissue. Biochem. J. 34 (1940), 260;
17. Burger, A.: Buch der Aromen. Verlag Villiger, Wägenswil, 2. Auflage 1955;
18. Burnett, M.C., C.W. Gehrke und D.E. Brady:
Volatile components of vacuum-packed dehydrated pork. J. Agric. Food Chem. 3 (1955), 524;

19. Churáček, J.: Bewertung der bisher bekannten Methoden der chromatographischen Trennung von niederen Fettsäuren, Fette und Seifen 64 (1962), 679;
20. Cremer, H.D., und E. Menden:
Über nichtenzymatische Bräunungsreaktionen und ihre physiologischen Folgen. Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 104 (1956), 33;
21. Crocker, E.C.: Flavor of meat, Food Res. 13 (1948), 179;
22. Diemair, W., und E. Schams:
Gaschromatographie in der Lebensmittelanalytik,
I. Mitteilung Bestimmung der niederen, flüchtigen Fettsäuren in Lebensmitteln. Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 112 (1960), 457;
23. Dimick, K.P., und J. Corse:
Gas chromatography - A new method for the separation and identification of volatile materials in foods, Food Technol. 10 (1956), 360;
24. Drosdow, N.S.: Praktischer Leitfaden durch die Biochemie des Fleisches, Akademie-Verlag, Berlin 1954, S. 259;
25. Eddy, B.P.: Relationships between nitrite and bacteria in the manufacture of bacon. VI^e Symposium sur les Matières Etrangères dans les Aliments, Madrid, Octobre 1960;
26. Ehrenberg, R., und H.J. Güttles:
Über die Wirkung von Rhodaniden und Sulfaten auf die Schwellenwerte des Geschmacks, Pflügers Arch. ges. Physiol. 251 (1949), 664;
27. Eser, H., und F.P. Niinivaara:
Über das Aroma von Rohwurst. Bericht Nr. 37 des VIII. Europäischen Kongresses der Fleischforschungsinstitute, Moskau, August 1962;

28. Eser, H., und F.P. Niinivaara:
Gaschromatographische Untersuchungen über das Aroma von Rohwurst, Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 124 (1964), 247;
29. Furgal, H.P., und J.W. Staackmann:
Verfahren zur Herstellung von wasserunlöslichen Fleischproteinen, Deutsches Patent 1 153 233;
30. Gehrke, C.W., und W.M. Lankin:
Quantitative determination of steam-volatile fatty acids by gas-liquid chromatography, J. Agric. Food Chem. 9 (1961), 85;
31. Ginger, I.D., G.D. Wilson und B.S. Schweigert:
Biochemistry of myoglobin. Quantitative determination in beef and pork muscle, J. Agric. Food Chem. 2 (1954), 1037;
32. Görnhardt, L.: Die nichtenzymatische Bräunung von Lebensmitteln. Fette und Seifen 57 (1955), 270, 429;
33. Grau, R.: Fleisch und Fleischwaren. Verlag A.W. Hayn's Erben, Berlin 1960;
34. Grau, R., und A. Böhm:
Die freien Aminosäuren des frischen und gepökelten Fleisches, Jahresber. d. Bundesforschungsanst. f. Fleischwirtschaft 1957, 82;
35. Grau, R., und A. Böhm:
Über das Aroma von Pökelfleisch in Beziehung zu wasserlöslichen Stoffen des Fleisches, Jahresber. d. Bundesforschungsanst. f. Fleischwirtschaft 1957, 87;
36. Grau, R., und A. Böhm:
Beiträge zur Biochemie des Pökelprozesses, Jahresber. d. Bundesforschungsanst. f. Fleischwirtschaft 1958, 65;

37. Grau, R., und A. Böhm:
Über freie Aminosäuren in frischem und gepökeltem Fleisch. Fleischwirtschaft 10 (1958), 70;
38. Grau, R., und A. Böhm:
Über Nicht-Protein-Aminosäuren in frischem und gepökeltem Fleisch. Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 108 (1958), 135;
39. Greenwood, D. A.: Proceedings of the chemical section of the American Meat Institute 1940; zit. n. Jensen (52);
40. Grossfeld, J., und F. Battay:
Versuche über Nachweis, Bestimmung und Vorkommen der Buttersäure in Lebensmitteln. Z. f. Unters. Lebensmittel 61 (1931), 129;
41. Günther, H.:
Papierchromatographische Bestimmung von natürlich im Fleisch vorkommenden Zuckern. Fleischwirtschaft 14 (1962), 520;
42. Hahn, H., und L. Ulbrich:
Eine systematische Untersuchung der Geschmacksschwelle. Pflügers Arch. ges. Physiol. 250 (1948), 357;
43. Herz, W. J., und R. S. Shallenberger:
Some aromas produced by simple amino acid, sugar reactions. Food Res. 25 (1960), 491;
44. Hewitt, E. J., D. A. M. Mackay und K. S. Königsbacher:
The role of enzymes in food flavors. Food Technol. 10 (1956), 487;
45. Hodge, J. E.:
Chemistry of browning in model systems. J. Agric. Food Chem. 1 (1953), 928;
46. Horner, L., und W. Kirmse:
Studie zum Ablauf der Substitution IX. Justus Liebigs Ann. Chem. 597 (1955), 48;

47. Hornstein, I., P.F. Crowe und W.L. Sulzbacher:
Constituents of meat flavor: Beef. J. Agric. Food
Chem. 8 (1960), 65;
48. Hornstein, I., und P.F. Crowe:
Flavor studies on beef and pork. J. Agric. Food
Chem. 8 (1960), 494;
49. Hornstein, I., P.F. Crowe und W.L. Sulzbacher:
Flavor of beef and whale meat. Nature (London)
199 (1963), 1252;
50. Howkanen, E., und P. Karvonen:
Determination of volatile flavors. Acta. Chem.
Scand. 17 (1963), 1357;
51. James, A.T., und A.I.P. Martin:
The separation and microestimation of volatile fatty
acids from formic to dodecanoic acid. Biochem. J.
50 (1952), 679;
52. Jensen, L.B.: Meat and meat foods. Ronald Press Company, New
York, 1949;
53. Jellinek, G.: Einführung in moderne Verfahren der Geruchs- und
Geschmacksprüfung. Ernährungsumschau 8 (1961),
198, 237;
54. Jellinek, G.: Geschmacksprüfungen als Hilfsmittel in der Forschung
I: Methoden der Geschmacksprüfung. Fette und Sei-
fen 58 (1956), 910;
55. Jellinek, G.: Geschmacksprüfungen als Hilfsmittel in der Forschung
II: Praxis der Geschmacksprüfung. Fette und Seifen
58 (1956), 1059;
56. Kaiser, R.: Chromatographie in der Gasphase; I Gas-Chromato-
graphie. Bibliographisches Institut, Mannheim 1960;

57. Kaufmann, F.C., J.W. Harlan, G.D. Lee, M.D. Wilding und R.D. Beckstrom;
Gas chromatography for meat flavor research. Proceedings of the Twelfth Conference. American Meat Institute Foundation Circular No. 61, July 1960;
58. Keeney, M.: Analyt. Chem. 29 (1957), 1489; zit. n. Eser und Niinivaara (27);
59. Koller, R.: Salz, Rauch und Fleisch. Verlag "Das Bergland-Buch", Salzburg 1941;
60. Kováts, L.T., und A. Rajky:
Zur Frage der nicht-enzymatischen Bräunung. Die Nahrung 2 (1958), 893;
61. Kováts, L.T.: Über organoleptische Untersuchungsmethoden. Ernährungsforschung 7 (1962), 395;
62. Königsbacher, K.S., E.J. Hewitt und R.L. Evans:
Application of flavor enzymes to processed foods. I. Panel studies. Food Technol. 13 (1959), 128;
63. Kramlich, W.E., und A.M. Pearson:
Some preliminary studies on meat flavor. Food Res. 23 (1958), 567;
64. Kramlich, W.E., und A.M. Pearson:
Separation and identification of cooked beef flavor components. Food Res. 25 (1960), 712;
65. Lobanow, D., und G. Wolfson:
Untersuchung der Melanoidinbildung bei der Fleischzubereitung. Die Nahrung 2 (1958), 660;
66. Macy, R.L. jr., H.D. Naumann und M.E. Bailey:
Water-soluble flavor and odor precursors of meat. I. Qualitative study of certain amino acids, carbohydrates, non-amino acid nitrogen compounds, and phosphoric acid esters of beef, pork, and lamb. J. Sci. Food Agric. 29 (1964), 136;

67. Macy, R.L. jr., H.D. Naumann und M.E. Bailey:
Water-soluble flavor and odor precursors of meat.
II. Effects of heating on amino nitrogen constituents
and carbohydrates in lyophilized diffusates from
aqueous extracts of beef, pork, and lamb. J. Sci.
Food Agric. 29 (1964), 142;
68. McLean, R.A., A.M. Gaddis, F.G. Suggs und P.F. Crowe;
Evaluation of flavors in meat by the use of aqueous
extracts. Food Technol. 13 (1959), 286;
69. Maillard, L.C., und M.A. Gautier;
Action des acides aminés sur les sucres; formation des
mélanoidines par voie méthodique. Compt. rend.
hebd. Séances Acad. Sci., Paris, 154 (1912), 66;
70. Merritt, C. jr., S.R. Bresnick, M. Bazinet, J.T. Walsh und P. Angelini;
Determination of volatile components of foodstuffs.
Techniques and their application to studies of irradiat-
ed beef. J. Agric. Food Chem. 7 (1959), 784;
71. Mohler, H.: Die Bedeutung der Enzyme in der Lebensmittelindustrie.
Mitt. Lebensmitt. -Untersuch. Hyg. 49 (1958), 406;
72. Morton, J.D., P. Akroyd und C.G. May;
Verfahren zur Herstellung eines Würzstoffes mit Fleisch-
geschmack. Deutsches Patent 1 127 193;
73. Moulton, L.R.: Practical applications of the principles of curing.
Meat 5, Nr. 3, 4, 5; zit. n. Koller (59);
74. Naguib, M., und E. Beerbom;
Chromatographie von organischen Säuren. Kieler
Milchwirtschaftl. Forschungsber. 9 (1957), 161;
75. Nawar, W.W., und J.S. Fagerson;
Direct gaschromatographic analysis as an objective
method of flavor measurement. Food Technol. 16
(1962), 107;

76. Niven, C.F.: Vinegar pickled meats. American Meat Institute Foundation, Bulletin No. 27, July 1956;
77. Ockerman, H.W., T.N. Blumer und H.B. Craig:
Volatile chemical compounds in dry-cured hams.
J. Sci. Food Agric. 29 (1964), 123;
78. Olson, L.E., D.A. Greenwood, H.M. Nielsen und E.B. Wilcox:
Some techniques for evaluating the flavor of processed meat. Food Res. 24 (1959), 696;
79. Patton, S., und D.V. Josephson:
A method for determining the significance of volatile flavor compounds in foods. Food Res. 22 (1957), 316;
80. Pearson, A.M., L.J. Bratzler, O.F. Batzer, R.A. Sliwinski und L. Chang:
The influence of level of irradiation, temperature, and length of storage upon the level of certain chemical components and panel scores for precooked beef, pork, and veal. Food Res. 24 (1959), 633;
81. Pippen, E.L., A.A. Cambell und I.V. Streeter:
Origin of Chicken flavor. J. Agric. Food Chem. 2 (1954), 364;
82. Pippen, E.L., M. Nonaka, F.T. Jones und F. Stitt:
Volatile carbonyl compounds of cooked chicken.
I. Compounds obtained by air entrainment. Food Res. 23 (1958), 103;
83. Pippen, E.L., und M. Nonaka:
Volatile carbonyl compounds of cooked chicken.
II. Compounds volatilized with steam during cooking. Food Res. 25 (1960), 764;
84. Plimmer, R.H.A.: The analysis of proteins. II. The action of nitrous acid upon the hexone bases. Biochem. J. 18 (1924), 105;

85. Ralls, J. W.: Rapid method for semiquantitative determination of volatile aldehydes, ketones and acids. *Anal. Chem.* 32 (1960), 332;
86. Ralls, J. W.: Flash exchange gas chromatography for the analysis of potential flavor components of peas. *J. Agric. Food Chem.* 8 (1960), 141;
87. Ritter, W.: Der Nachweis der flüchtigen Fettsäuren. *Milchwissenschaft* 10 (1955), 122;
88. Ritter, W., und H. Hänni:
Der Nachweis und die Bestimmung der flüchtigen Fettsäuren in Milchprodukten und Kulturen. *Milchwissenschaft* 15 (1960), 296;
89. Rothe, M., und B. Thomas:
Über Bildung, Zusammensetzung und Bestimmung von Aromastoffen des Brotes. *Die Nahrung* 3 (1959), 1;
90. Rothe, M.: Über flüchtige Aromastoffe in Roggenbrot. *Ernährungsforschung* 5 (1960), 131;
91. Rothe, M.: Zur Definition der Begriffe "Aroma" und "Aromastoff". *Ernährungsforschung* 7 (1962), 639;
92. Rothe, M., und B. Thomas:
Aromastoffe des Roggenbrotes; Versuch einer Auswertung chemischer Geschmacksanalysen mit Hilfe des Schwellenwertes. *Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch.* 19 (1962/63), 302;
93. Rothe, M., und I. Voigt:
Studien zur Bräunung und Aromabildung bei der Maillard-Reaktion. *Die Nahrung* 7 (1963), 50;
94. Schenk, M., und E. Kolb:
Grundriß der physiologischen Chemie für Veterinärmediziner, Humanmediziner und Biologen. Gustav Fischer Verlag, Jena 1959, S. 30;

95. Schmidt, C.L.A.: The reaction between nitrous acid and certain amino acids and related compounds at 45°. J. Biol. Chem. 82 (1929), 587;
96. Schormüller, J., und H. Langer:
Analysengang zur quantitativen Bestimmung organischer Säuren in Lebensmitteln. Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 113 (1960), 104;
97. Schormüller, J.: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1961;
98. Schormüller, J., und W. Grosch:
Untersuchungen über Aromastoffe von Lebensmitteln. I. Mitteilung: Ein Beitrag zur Analytik neutraler, in Tomaten vorkommender Carbonylverbindungen. Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 118 (1962), 385;
99. Siedel, W.: Pyrrolfarbstoffe. In Hoppe-Seyler/Thierfelder: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Bd. IV/2, 10. Aufl., Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1960, S. 921 ff.;
100. Skramlik, E.v.: Die Physiologie des Geruchs- und Geschmackssinnes, Leipzig; zit. n. Koller (59);
101. Stahl, W.H.: Chemistry of natural food flavour; zit. n. Bender und Ballance (7);
102. Tarr, H.L.A.: The Maillard reaction in flesh foods. Food Technol. 8 (1954), 15;
103. Täufel, K., H. Iwainsky und H. Bergner:
Analytische und chromatographische Studien zur Maillard-Reaktion. Ernährungsforschung 1 (1956) 704;
104. Ten Cate, L.: Elementare Pökerversuche. VIII. Teil. Veränderung des Nitrat- und Nitritgehaltes von Pökelfleisch bei mehrfacher Verwendung der Lake. Fleischwirtschaft 15 (1963), 191;

105. Ten Hoopen, H.J.G.:
Flüchtige Carbonylverbindungen in Honig. Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 119 (1962/63), 478;
106. Terplan, G.:
Biologische, chemische und physikalische Vorgänge bei der Herstellung von gepökelten und gereiften Fleischwaren, Abhandlung zur Erlangung der Venia legendi. Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Fakultät München, 1962;
107. Thomas, B., und M. Rothe:
Versuche zur Isolierung und Identifizierung der Aromastoffe des Roggenbrotes. Ernährungsforschung 1 (1956), 362;
108. Van Slyke, D.D.: A method for quantitative determination of aliphatic amino groups. J. Biol. Chem. 9 (1911), 185;
109. Weir, C.E.:
in: The Science of meat and meat products. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London, 1960, S. 212;
110. Wilder, O.H.M., und H.R. Kraybill:
Effect of cooking and curing on lysine content of pork luncheon meat. J. Nutrition 33 (1947), 235;
111. Wilson, G.D.:
in: The science of meat and meat products. W.H. Freeman and Company, San Francisco and London, 1960, S. 331;
112. Wood, T., und A.E. Bender:
Analysis of tissue constituents. Commercial ox-muscle extract. Biochem. J. 67 (1957), 366;
113. Wood, T.:
Some applications of paper chromatography to the examination of meat extract. J. Sci. Food Agric. 7 (1956), 196;

114. Wood, T.: The browning of ox-muscle extracts. J. Sci. Food Agric. 12 (1961), 61;
115. Yueh, M.H., und F.M. Strong:
Some volatile constituents of cooked beef. J. Agric. Food Chem. 8 (1960), 491;
116. Zatočil, O.: Zur Frage der Nitritwirkung in Fleischwaren. Fleischwirtschaft 15 (1963), 798.

Am Ende meiner Dissertation möchte ich Herrn Professor
Dr. L. K o t t e r für die Überlassung des Themas herzlich danken.

Mein Dank gilt ebenso Herrn Privatdozenten
Dr. G. T e r p l a n für die jederzeit gewährte Unterstützung und die kritische Durchsicht des Manuskripts.

LEBENS LAUF

Am 24. Dezember 1939 wurde ich, Arndt Horst Palitzsch, als Sohn des Landwirts Georg Palitzsch und seiner Ehefrau Erna, geb. Eisold, in Wallroda geboren.

Nach achtjähriger Grundschulzeit besuchte ich die Humboldt-Oberschule Radeberg und legte 1957 das Abitur ab. Dieses Zeugnis wurde 1958 in Würzburg nach einer Sonderprüfung anerkannt.

Im Sommersemester 1958 begann ich mit dem Studium der Tiermedizin an der Universität München und bestand im März 1963 die tierärztliche Prüfung. Am 15. Oktober 1963 erhielt ich die Bestallung als Tierarzt.



